

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL  
INSTITUTO DE QUÍMICA

CLARA VIANA MIRANDA

**DETECÇÃO DE FTALATOS NO LAGO GUAÍBA UTILIZANDO A METODOLOGIA  
DE *SUSPECT SCREENING***

PORTO ALEGRE

2022

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL  
INSTITUTO DE QUÍMICA

CLARA VIANA MIRANDA

**DETECÇÃO DE FTALATOS NO LAGO GUAÍBA UTILIZANDO A METODOLOGIA  
DE *SUSPECT SCREENING***

Trabalho de conclusão de curso apresentado junto a atividade de ensino “Trabalho de Conclusão de Curso -QUI” do Curso de Química, como requisito parcial para a obtenção do grau de Bacharel em Química.

Profa. Dra. Tânia Mara Pizzolato

Orientadora

PORTO ALEGRE

2022

CLARA VIANA MIRANDA

**DETECÇÃO DE FTALATOS NO LAGO GUAÍBA UTILIZANDO A METODOLOGIA  
DE *SUSPECT SCREENING***

Trabalho de Conclusão de Curso

Aprovado pela banca examinadora em 03 de outubro de 2015.

**BANCA EXAMINADORA:**

---

Prof.<sup>a</sup> Dr.<sup>a</sup> Tânia Mara Pizzolato

Orientadora

---

Dr.<sup>a</sup> Raquel Wielens Becker

Universidade Federal do Rio Grande do Sul

---

Prof. Dr. Klester dos Santos Souza

Universidade Federal do Rio Grande do Sul

## CIP - Catalogação na Publicação

Miranda, Clara Viana

Detecção de ftalatos no Lago Guaíba utilizando a metodologia de suspect screening / Clara Viana Miranda. -- 2022.

50 f.

Orientadora: Tânia Mara Pizzolato.

Trabalho de conclusão de curso (Graduação) -- Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Instituto de Química, Bacharelado em Química, Porto Alegre, BR-RS, 2022.

1. Contaminantes Emergentes. 2. Suspect Screening. 3. Água Superficial. 4. LC-HRMS. 5. Ftalatos. I. Pizzolato, Tânia Mara, orient. II. Título.

## AGRADECIMENTOS

Gostaria de agradecer primeiramente aos meus pais, Simone Viana e Marcos Miranda, que foram e sempre serão meus maiores apoiadores, que foram meu primeiro contato com a vida acadêmica e que sempre me incentivaram. Eu sempre disse que queria ser cientista quando crescesse, e agora esse sonho é realidade;

Aos meus professores de química do ensino médio, Viviane Fermiano e Marcus Ribeiro, que viram em mim uma curiosidade e paixão pela química e me incentivaram a seguir esse caminho.

Ao grupo do Laboratório de Química Analítica e Ambiental (LQAA), por ser a minha segunda casa, pelo apoio, parceria e aprendizados. À minha orientadora Tânia Pizzolato, por me acolher, desafiar e incentivar, e por todas as oportunidades que tive ao trabalhar com ela desde 2019. Ao Maurício Perin que não faz mais parte dessa equipe, mas me ensinou a trabalhar em um laboratório, cuja tese de doutorado foi a base para o esse trabalho. À Nicole Lazzari pela parceria nesses últimos anos, minha companhia para aquele docinho após o almoço, que acompanhou de perto a produção desse trabalho, e que me ensinou a operar o GC e fazer meu primeiro SPME. Ao Luis Gustavo, que ao longo do meu tempo trabalhando no LQAA se tornou um grande amigo, que não só me ajudou a processar os dados desse projeto, mas que restaurou meu HD externo com estes dados e salvou meu trabalho, sem ele isso não teria sido possível. E a todos os outros membros dessa equipe que fizeram parte da minha jornada;

Às amigas que fiz durante a minha graduação. João Eduardo Lavarda, meu parceiro desde o primeiro semestre, Eduarda Flach e Laura Zenni, o ensino remoto teria sido muito mais difícil sem vocês. À Camila Brambila e Pedro Acosta, que entraram na vida nesse último semestre e fizeram dele muito mais divertido. Ao Gilmar Vieira, que sempre sabe o que eu preciso ouvir, mesmo que a realidade seja dura e que foi minha companhia para várias madrugadas acordadas fazendo trabalhos. Em especial à Nathália Henrich, minha irmã de coração, não poderia imaginar a minha graduação sem você ao meu lado, que me ajudou em físico-química, e física e tantas outras disciplinas quando tive dificuldade, que foi meu ombro amigo quando mais precisei, que me ajudou a perceber o meu valor, que é minha companhia para todas as horas, boas e ruins, que está sempre disposta a passar um tempo comigo, seja isso no Fênix ou em casa com a Luna e a Fryda. À

Mariana Canova, que não conheci na graduação, mas sim no ensino médio, e é uma das amizades mais duradouras e genuínas que tenho, que não entende nada de química, mas me ouviu falar sobre as maravilhas e dificuldades que vivi durante o curso;

Às agências de fomento (CNPq, CAPES, FAPERGS) e a UFRGS pelo apoio ao ensino e à pesquisa científica.

## RESUMO

Este trabalho descreve a metodologia de *suspect screening* pós-data aplicada para a detecção de ftalatos em água do Lago Guaíba. Foi elaborada uma biblioteca de ftalatos de interesse, ou seja, “compostos suspeitos”, a partir de trabalhos da literatura utilizando as plataformas *Google Scholar*, *Elsevier* e Periódicos CAPES, como banco de dados, que contivessem palavras-chaves como “ftalatos”, “saúde”, “plastificantes”, “análise”, “água”, “toxicidade”, “exposição”, “contaminantes” e “detecção” e o limitou-se o período de publicação dos trabalhos ao ano 2000 até o ano atual, 2022. Realizou-se o processo de *screening* de amostras coletadas e processadas nos meses de maio, junho, julho e agosto de 2019 e 2020, utilizando o *software* Bruker Compass Data Analysis 4.2<sup>®</sup>. Da lista original de 18 ftalatos de interesse que seriam analisados durante o processo de *screening*, confirmou-se a presença de pelo menos 10 deles, e desses 10 ftalatos identificados 5 são conhecidos como compostos desreguladores endócrinos. Avaliou-se também a distribuição espacial dos ftalatos identificados, e foi possível observar uma correlação entre as amostras com maior ocorrência desses compostos e as regiões nas quais elas se encontram. Considerando os problemas de saúde associado a exposição elevada de ftalatos e a ausência de legislações mais rigorosas para limitar a contaminação de águas superficiais e água potável por esses compostos, esse tipo de trabalho torna-se de suma importância para o monitoramento da presença deles.

**Palavras-chave:** Ftalatos. *Suspect Screening*. Compostos Desreguladores Endócrinos. Água Superficial. LC-HRMS.

## ABSTRACT

This present work describes the application of a post-data suspect screening approach for the identification of phthalates in the waters of the Guaíba Lake. The first step was to construct a database of phthalates of interest for this study, otherwise known as suspect compounds, using Google Scholar, Elsevier, and CAPES Journals research platforms, to search for studies containing the keywords “phthalates”, “health”, “plasticizers”, “analysis”, “water”, “toxicity”, “exposure”, “contaminants”, and “detection”, published between the years 2000 and 2020. The next step was to perform the screening process, for samples that were collected and processed in the months of May, June, July, and August of 2019 and 2020, using the Bruker Compass Data Analysis 4.2<sup>®</sup> software. From the original suspect compound list of 18 phthalates, at least 10 were found in the samples, and of these 10 phthalates, 5 are known endocrine disruptors. The spatial distribution of the identified phthalates was also studied, and a correlation between the samples with the highest occurrence of phthalates and the area in which the samples were collected was observed. Considering the health risks associated with high phthalate exposure, and the lack of more rigorous legislations to limit their contamination of bodies of water, and drinking water alike, this type of work is of the utmost importance for monitoring the presence of these compounds.

**Keywords:** Phthalates. Suspect Screening. Endocrine Disrupting Compounds. Surface Water. LC-HRMS.

## LISTA DE FIGURAS

<b>Figura 1:</b> Estrutura molecular dos ftalatos BBP, DBP, DEHP, DEP e DHP .....	5
<b>Figura 2:</b> Diagrama dos principais meios de exposição à ftalatos (via oral, inalatória e pele cutânea). .....	6
<b>Figura 3:</b> Estrutura molecular dos ftalatos DMP, DEP, DnBP, DiBP, BBP e seus metabólitos MMP, MEP, MnBP, MiBP e MBP .....	8
<b>Figura 4:</b> Estrutura molecular do ftalato DEHP e seu metabólito MEHP, 5OH-MEHP, MCMHP, 5oxo-MEHP e MECPP .....	9
<b>Figura 5:</b> Estrutura molecular do ftalato DiNP e seus metabólitos OH-MiNP, MCiOP, oxo-MiNP, MiNP. ....	10
<b>Figura 6:</b> Diagrama de sistema de Extração Líquido-Líquido .....	13
<b>Figura 7:</b> Diagrama de sistema de Extração em Fase Sólida .....	14
<b>Figura 8:</b> (a) Diagrama de sistema de Extração em Fase Sólida. (b) Diagrama de Extração em Fase Sólida com Headspace.....	15
<b>Figura 9:</b> Usando como exemplo o cromatograma gerado para o DEP; (a) Seleção de um pico no cromatograma e espectro de massas correspondente, com sinal do íon do DEP protonado; (b) Fórmula molecular do DEP confirmado no <i>SmartFormula Manually</i> dentro da tolerância de erro; (c) Comparação da razão isotópica observado no espectro com a razão isotópica teórico do <i>Compass IsotopePattern</i> ; (d) Comparação dos fragmentos teóricos obtidos no MassBank com os fragmentos do DEP na amostra.....	21
<b>Figura 10:</b> Ocorrência de ftalatos em cada amostra .....	25
Sabendo-se que ftalatos são contaminantes sempre presentes, poderia ser discutido se houve contaminação das amostras pelo método de preparo e análise empregado por Perin, <i>et al</i> , 2020, uma vez que esse método foi validado para detecção de pesticidas e agrotóxicos, mas não para ftalatos. Olhando a matriz de densidades (Figura 10), observamos que houveram amostras onde não foram encontrados ftalatos, o que permite inferir que, apesar dos dados utilizados serem provenientes de amostras analisadas por um método não específico para ftalatos, a contaminação pelos ftalatos monitorados, foi desconsiderada.....	26
<b>Figura 11:</b> Mapa de pontos de amostragem ao longo do Lago Guaíba. ....	26

## LISTA DE TABELAS

<b>Tabela 1:</b> Base de dados de compostos suspeitos .....	18
<b>Tabela 2:</b> Lista dos ftalatos encontrados nas amostras .....	22
<b>Tabela 3:</b> Lista de ftalatos encontrados em cada amostra analisada .....	24
<b>Tabela 4:</b> Pontos de coleta com as suas respectivas coordenadas .....	27

## SÍMBOLOS E ABREVIações

5OH-MEHP - Monoftalato de (2-etil-5-hidroxihexil)

5OXO-MEHP - Monoftalato de (2-etil-5-oxohexil)

AES - Extração Acelerada Por Solvente

ASTM - American Society for Testing and Materials

BBP - Ftalato de Benzilbutila

CAPES - Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior

DEEP - Ftalato de di(2-etoxietila)

DEHP - Ftalato de di(2-etilhexila)

DEP - Ftalato de dietila

DiBP - Ftalato de di-iso-butila

DiNP - Ftalato de di-iso-nonila

DiPrP - Ftalato de di-iso-propila

DMP - Ftalato de dimetila

DnBP - Ftalato de di-n-butila

DnHP - Ftalato de di-n-hexila

DnOP - Ftalato de di-iso-nonila

DnPP - Ftalato de di-n-pentila

DnPrP - Ftalato de di-n-propila

DPhP - Ftalato de difenila

EDC - Composto Desregulador Endócrino

EU - União Europeia

GC - Cromatografia à Gás

GC-FID - Cromatografia à Gás acoplado a Detector de Ionização de Chamas

GC-MS - Cromatografia à Gás acoplado a Espectrômetro de Massas

HPLC - Cromatografia à Líquido de Alta Eficiência

HS-SPME - Micro extração em Fase Sólida com Headspace

LC - Cromatografia à Líquido

LC-DAD - Cromatografia à Líquido Acoplada A Detector Por Arranjo De Diodos

LC-MS - Cromatografia à Líquido acoplado a Espectrômetro de Massas

LC-UV - Cromatografia à Líquido acoplado a UV-visível

LLE - Extração Líquido-Líquido

LOD - Limites de Detecção

LOQ - Limites de Quantificação

MAE - Extração Assistida Por Micro-ondas

MBP - Monoftalato de benzila

MCiOP - Monoftalato de carboxi-iso-octila

MCMHP - Monoftalato de (2-carboxyhexil)

MECPP - Monoftalato de (2-etil-5-carboxyhexil)

MEHP - Monoftalato de (2-etilhexila)

MEP - Monoftalato de etila

MiBP - Monoftalato de iso-butila

MiNP - Monoftalato de iso-nonila

MMP - Monoftalato de metila

MnBP - Monoftalato de n-butila

MRM - Monitoramento de Reações Múltiplas

*m/z* - Razão massa/carga

NACOOH - Formiato de Sódio

ODS - Octadecilsilano

OH-MiNP - Monoftalato de hidróxi-iso-nonila

OMS - Organização Mundial da Saúde

OXO-MiNP - Monoftalato de oxo-iso-nonila

PDMS-DVB - Polidimetilsiloxano e Divinil-benzeno

PLE - Extração por Líquido Pressurizado

PPB - Partes por Bilhão

PPM - Partes por Milhão

PVC - Policloreto de Vinila

QTOF – Quadrupolo -Tempo de Vôo

RCIU - Restrição De Crescimento Intrauterina

SFE - Extração De Fluido Supercrítico

SPE - Extração em Fase Sólida

SPME - Micro Extração em Fase Sólida

TD - Dessorção Térmica

Tr - Tempo de Retenção

UHPLC/Q-TOF-MS - Cromatografia à Líquido de Ultra Eficiência acoplada a Espectrometria de Massas por Tempo de Vôo

US EPA - United States Environmental Protection Agency

USE - Extração Assistida Por Ultrassom

VMP - Valor Máximo Permitido

## SUMÁRIO

<b>1. INTRODUÇÃO .....</b>	<b>1</b>
<b>2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA .....</b>	<b>3</b>
2.1 <i>TARGET, NON-TARGET E SUSPECT SCREENING</i> .....	3
2.2 FTALATOS .....	3
2.2 PROBLEMAS DE SAÚDE E PARA O MEIO AMBIENTE .....	5
2.3 TÉCNICAS DE PREPARO DE AMOSTRAS E METODOS DE ANÁLISE .....	12
<b>3. OBJETIVOS .....</b>	<b>17</b>
3.1 OBJETIVOS ESPECÍFICOS .....	17
<b>4. MATERIAIS E MÉTODOS .....</b>	<b>18</b>
4.1 MATERIAIS .....	18
4.2.1 MÉTODO .....	18
4.2.2 <i>Seleção dos ftalatos a serem estudados</i> .....	18
4.2.2 <i>Suspect Screening</i> .....	20
<b>5. RESULTADOS E DISCUSSÃO .....</b>	<b>22</b>
<b>6. CONCLUSÃO .....</b>	<b>29</b>
<b>REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....</b>	<b>30</b>
<b>ANEXO A: CONDIÇÕES DE PREPARO DE AMOSTRAS POR SPE E ANÁLISE POR CROMATOGRAFIA À LÍQUIDO E ESPECTROMETRIA DE MASSAS (LC- QTOF-MS) .....</b>	<b>37</b>

## 1. INTRODUÇÃO

Ftalato é o nome dado a um grupo de diésteres sintéticos, derivados do ácido ftálico/anidrido ftálico e álcoois, usados em grande escala no mundo todo, principalmente como aditivos, solventes e plastificantes, devido ao seu baixo custo (SERODIO; NOGUEIRA, 2006; ZIA *et al.*, 2013). Eles estão presentes em inúmeros produtos e devido às suas diversas aplicações os ftalatos são considerados contaminantes ambientais omnipresentes (SERODIO; NOGUEIRA, 2006). Os ftalatos são moléculas apolares, líquidos à temperatura ambiente (LUKS-BETLEJ *et al.*, 2001). Por esse motivo os maiores níveis de contaminação costumam ser encontrados em alimentos com alto teor de gorduras, mas eles também são encontrados em águas subterrâneas, superficiais e até em água potável em níveis de traços, sendo assim são considerados contaminantes omnipresentes (DAVID FRANK AND SANDRA, 2003; SERODIO; NOGUEIRA, 2006).

Existem mais de 100 ftalatos diferentes, dentre eles os mais utilizados em indústrias como plastificantes são: ftalato de di(2-etilhexila) (DEHP), ftalato de benzilbutila (BBP), ftalato de di-n-butila (DBP), ftalato de di-n-hexila (DnHP) e ftalato de di-etila (DEP) (BODZEK; DUDZIAK; LUKS-BETLEJ, 2004; HEUDORF; MERSCH-SUNDERMANN; ANGERER, 2007; OUCHI; YANAGISAWA; FUJIMAKI, 2019; ZIA *et al.*, 2013) e eles são considerados contaminantes prioritários por muitos países devido aos riscos que apresentam ao ser humano e ao meio ambiente, pois os ftalatos são desreguladores endócrinos, (BILA; DEZOTTI, 2007; PALLOTTI *et al.*, 2020). Alguns estudos já encontraram relações entre a elevada exposição a ftalatos (principalmente DEHP) e problemas de fertilidade, tireoide e obesidade, tanto em homens quanto mulheres, e maiores frequências de endometriose em mulheres (HEUDORF; MERSCH-SUNDERMANN; ANGERER, 2007; ROWDHWAL; CHEN, 2018).

Assim, o objetivo desse trabalho é realizar uma análise qualitativa da presença de ftalatos na água do Lago Guaíba, assim como estudar a distribuição espacial desses contaminantes, e calcular o coeficiente de risco para eles. A primeira etapa desse trabalho consistiu em uma pré-seleção dos ftalatos a serem estudados a partir da literatura. Na segunda etapa realizou-se uma análise pós-data de amostras do Lago Guaíba, que haviam sido processados via UHPLC-Q-TOF-MS,

para construir a tabela de *suspect screening* que servirá de base de dados para avaliar a ocorrência de ftalatos ao longo do período monitorado.

## 2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

### 2.1 TARGET, NON-TARGET E SUSPECT SCREENING

Existem inúmeros compostos orgânicos contaminantes que são encontrados em níveis traços em ambientes aquáticos, solos e sedimentos, além dos seus metabólitos e produtos de degradação/transformação e a detecção desses, a concentrações em faixas de mg/L e µg/L, de forma precisa e exata é feita por análise do tipo *target* usando cromatografia a líquido ou gás, dependendo da natureza do analito. A análise do tipo *target*, porém, é limitada pela presença de um padrão analítico, sendo assim, existem diversos compostos que não podem ser analisados por esse método por não possuírem padrão analítico, como metabólitos e produtos de degradação de fármacos e agrotóxicos (BACKE, W. J. 2021).

A espectrometria de massas de alta resolução, em modo MRM (Monitoramento de Reações Múltiplas), como QTOF (Quadrupolo-Tempo de Vão) e Orbitrap, permitem realizar análises pós-data, e possibilitam a busca de compostos adicionais aos *target*. Essas análises pós-data por compostos adicionais podem ser do tipo *non-target* ou *suspect screening*, e permitem realizar a identificação de compostos que não possuem padrão analítico (PERIN, 2021). A análise *non-target* envolve a utilização de espectros teóricos (precursor, isótopo, aduto e íons produto), assim como a massa exata para realizar a identificação sem informação *a priori*. O método de *Suspect Screening* baseia-se na elaboração de uma lista de compostos suspeitos com suas propriedades, como: massas exatas, razões isotópicas e padrões de fragmentação; que permitem identificá-los no processamento de dados (BACKE, W. J. 2021).

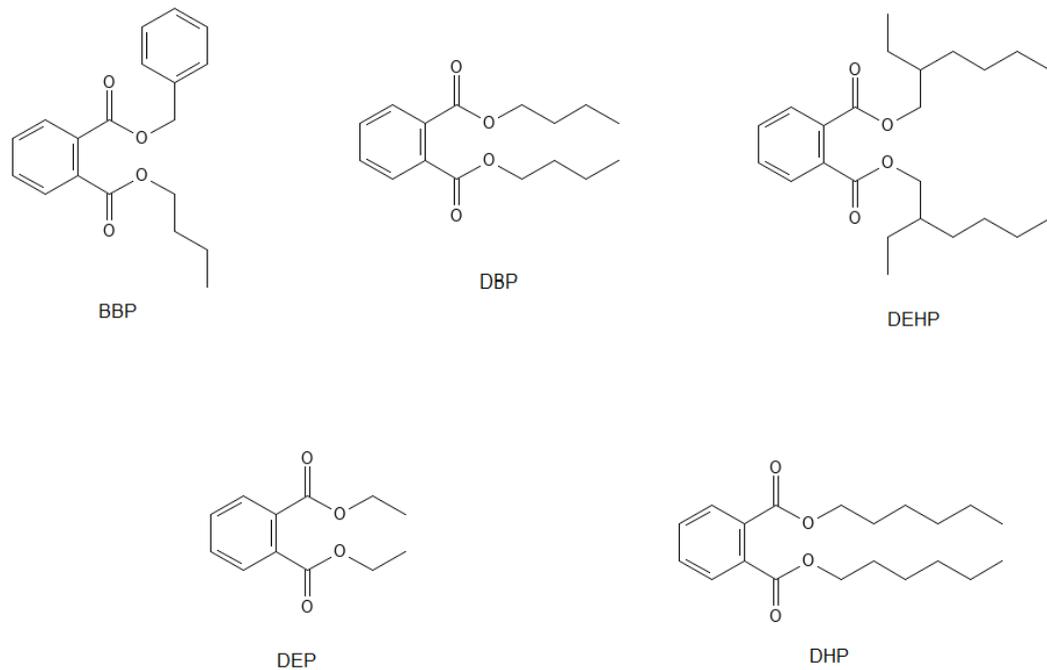
### 2.2 FTALATOS

Ftalatos foram introduzidos como plastificantes na indústria pela primeira vez em 1920, como uma alternativa à cânfora, que era utilizado na polimerização de nitrato de celulose (GRAHAM, 1973). Com o avanço da tecnologia e eventualmente o consumo de produtos plásticos, foram sintetizados novos ftalatos para serem usados como plastificantes em outras indústrias. Atualmente existem diversos ftalatos cujas aplicações vão desde plastificantes para o PVC, borracha, celulose e

poliestireno, a solventes em tintas e herbicidas, e eles podem ser encontrados em cosméticos, produtos de higiene pessoal, materiais hospitalares, solventes orgânicos, brinquedos de crianças e materiais de construção (SERODIO; NOGUEIRA, 2006; ZIA *et al.*, 2013) por serem de relativo baixo custo.

Os ftalatos mais utilizados na indústria são: o ftalato de di(2-etilhexila) (DEHP), ftalato de benzilbutila (BBP), ftalato de di-n-butila (DBP), ftalato de di-n-hexila (DHP) e ftalato de di-etila (DEP) (Figura 1) (HEUDORF; MERSCH-SUNDERMANN; ANGERER, 2007), e eles são substâncias apolares, lipofílicas, incolores e praticamente inodoros (ROWDHWAL; CHEN, 2018a; WEAVER *et al.*, 2020). O DEP é utilizado principalmente em cosméticos e produtos de higiene, como perfumes, detergentes, cremes, esmaltes e *sprays* de cabelo, mas também pode ser encontrado em filmes plásticos, tintas, lubrificantes industriais e borrachas (WEAVER *et al.*, 2020). O DHP e DBP são tipicamente utilizados como plastificantes em luvas de vinil, tubos de PVC flexíveis, adesivos de látex, pesticidas, solventes para corantes e plásticos a base de celulose (HEUDORF; MERSCH-SUNDERMANN; ANGERER, 2007). O BBP é principalmente utilizado como solvente em tintas e pigmentos, plastificante para PVC e em pisos vinílicos, couro artificial, esteiras de produção na indústria alimentar e embalagens de alimentos (ZHANG *et al.*, 2016). O DEHP é o ftalato mais utilizado na indústria de plastificantes e suas aplicações são inúmeras, como em equipamentos médicos, bolsas de sangue e bolsas intravenosas, tubos e cateteres; em materiais de construção, como tubos de PVC, pisos vinílicos, lonas, adesivos, espumas e isolantes, papeis de parede e estofados; embalagens de alimentos e bebidas; brinquedos e produtos infantis; e cosméticos (ROWDHWAL; CHEN, 2018a).

**Figura 1:** Estrutura molecular dos ftalatos BBP, DBP, DEHP, DEP e DHP.



Fonte: a autora.

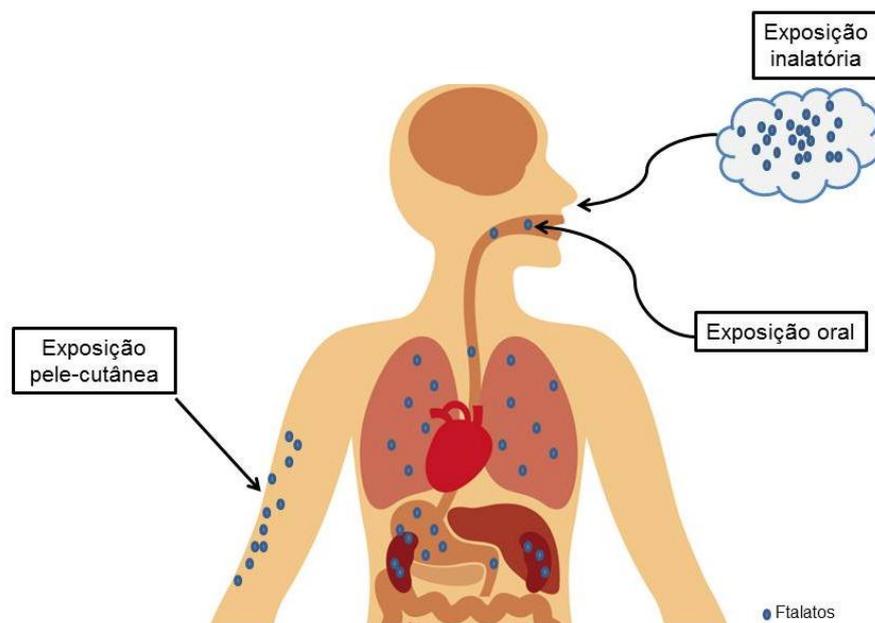
Os ftalatos quando utilizados como plastificantes são incorporados fisicamente a matriz polimérica, mas não se ligam covalentemente a estrutura do polímero. Sendo assim, eles lixiviam facilmente das embalagens para alimentos e bebidas, são expelidos para o meio ambiente em processos de fabricação de polímeros, e são absorvidos pelo corpo durante a ingestão de alimentos e bebidas contidas em embalagens que os contém (HEUDORF; MERSCH-SUNDERMANN; ANGERER, 2007; SERODIO; NOGUEIRA, 2006; ZIA *et al.*, 2013). Por serem apolares os maiores níveis de contaminação costumam ser encontrados em alimentos com alto teor de gorduras, mas eles também são encontrados em sedimentos, águas subterrâneas, superficiais e até em água potável, no solo e no ar em níveis traços, sendo assim são considerados contaminantes ambientais onnipresentes (DAVID FRANK AND SANDRA, 2003; SERODIO; NOGUEIRA, 2006).

## 2.2 PROBLEMAS DE SAÚDE E PARA O MEIO AMBIENTE

Devido à onnipresença dos ftalatos a exposição de pessoas a essas substâncias não se limita apenas exposição ocupacional, mas da população em

geral também, por via oral, inalatória e pele-cutânea (Figura 2) (HAUSER, 2005). As principais formas de exposição por via oral são por alimentos e bebidas contaminadas, devido à presença de ftalatos nas embalagens ou na cadeia de produção, suplementos alimentares com composições lipídicas, fórmula infantil, e brinquedos de plástico, que são de especial risco para bebês e crianças pequenas. A exposição via pele-cutânea se dá principalmente através de sabonetes, detergentes, perfumes, cremes e cosméticos em geral que utilizam ftalatos em sua composição. Exposição via inalatória de ftalatos pode se dar pelo uso de equipamentos médicos inalatórios uma vez que os tubos flexíveis de PVC utilizados nesses equipamentos podem conter ftalatos, e ainda ftalatos podem estar presentes no ar e se ligarem a partículas de poeira que são inalados (HAUSER, 2005; SCHETTLER, 2006).

**Figura 2:** Diagrama dos principais meios de exposição à ftalatos (via oral, inalatória e pele cutânea).

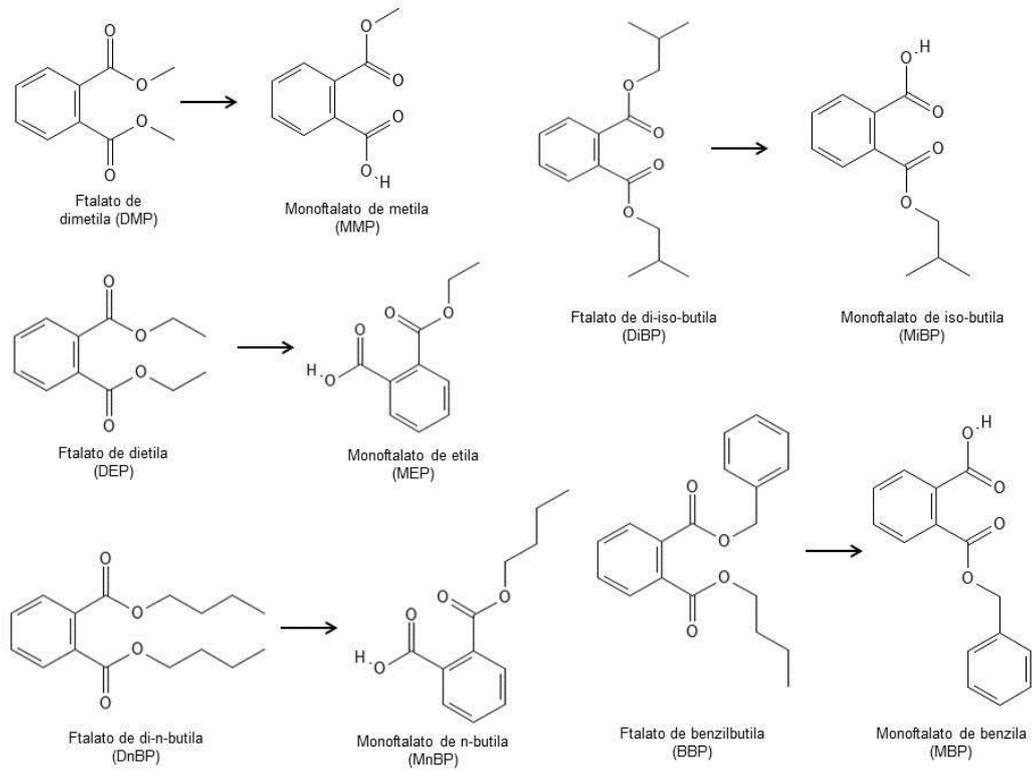


Fonte: a autora.

A exposição humana a ftalatos é uma questão de saúde pública, pois diversos ftalatos foram identificados como sendo tóxicos para o sistema reprodutivo e classificados como desreguladores endócrinos (EDC), tendo sido detectados em diversas matrizes humanas, como urina, sangue, leite materno, sêmen, saliva, fluido amniótico e sangue do cordão umbilical (BILA; DEZOTTI, 2007; LATINI; DE FELICE; VERROTTI, 2004; LYCHE *et al.*, 2009; SILVA *et al.*, 2005), sugerindo que ftalatos são capazes de atravessar a placenta. Adicionalmente, DEHP e MEHP já foram quantificados em placenta humana, indicando que ftalatos não só são capazes de serem transportados através da interface mãe-feto, como também são capazes de se depositarem no tecido da placenta (CASERTA *et al.*, 2018; LI *et al.*, 2014; MARTÍNEZ-RAZO *et al.*, 2021; SILVA *et al.*, 2004). Desreguladores endócrinos (EDC) são, por definição, substâncias que podem: danificar diretamente um órgão endócrino; alterar diretamente a função de um órgão endócrino; interagir com um receptor de hormônios, ou alterar o metabolismo de um hormônio em um órgão (BILA; DEZOTTI, 2007).

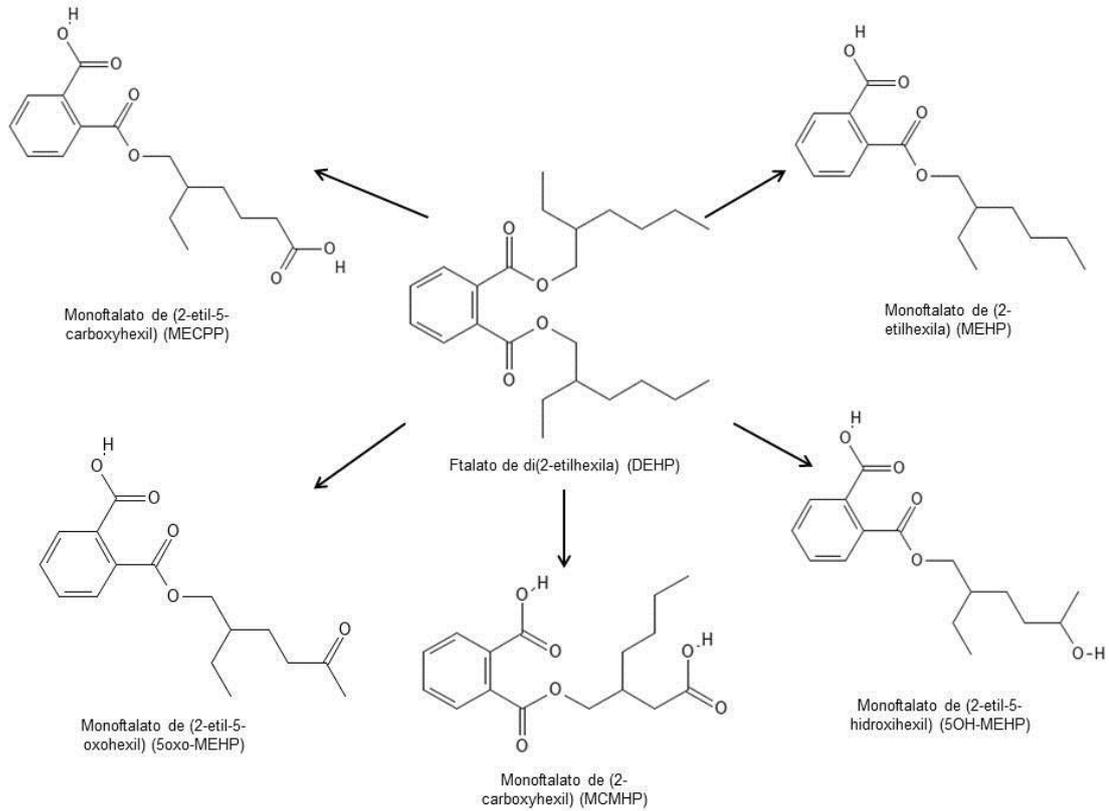
Os seguintes ftalatos expostos nas Figura 3, 4 e 5 são classificados como desreguladores endócrinos (BILA; DEZOTTI, 2007), e uma vez absorvidos pelo corpo, são rapidamente metabolizados no estômago, sangue e fígado por enzimas esterases e lipases. Inicialmente o ftalato é hidrolisado, formando seu metabólito primário (monoéster), que é o principal causador da toxicidade endócrina (Figura 3, Figura 4, Figura 5). Os monoésteres de cadeia curta são excretados na urina, enquanto os metabólitos de cadeia longa sofrem outras biotransformações, incluindo hidroxilações e oxidações, sendo excretados por fim na urina e nas fezes como um conjugado glicuronídeo (FREDERIKSEN; SKAKKEBAEK; ANDERSSON, 2007).

**Figura 3:** Estrutura molecular dos ftalatos DMP, DEP, DnBP, DiBP, BBP e seus metabólitos MMP, MEP, MnBP, MiBP e MBP.



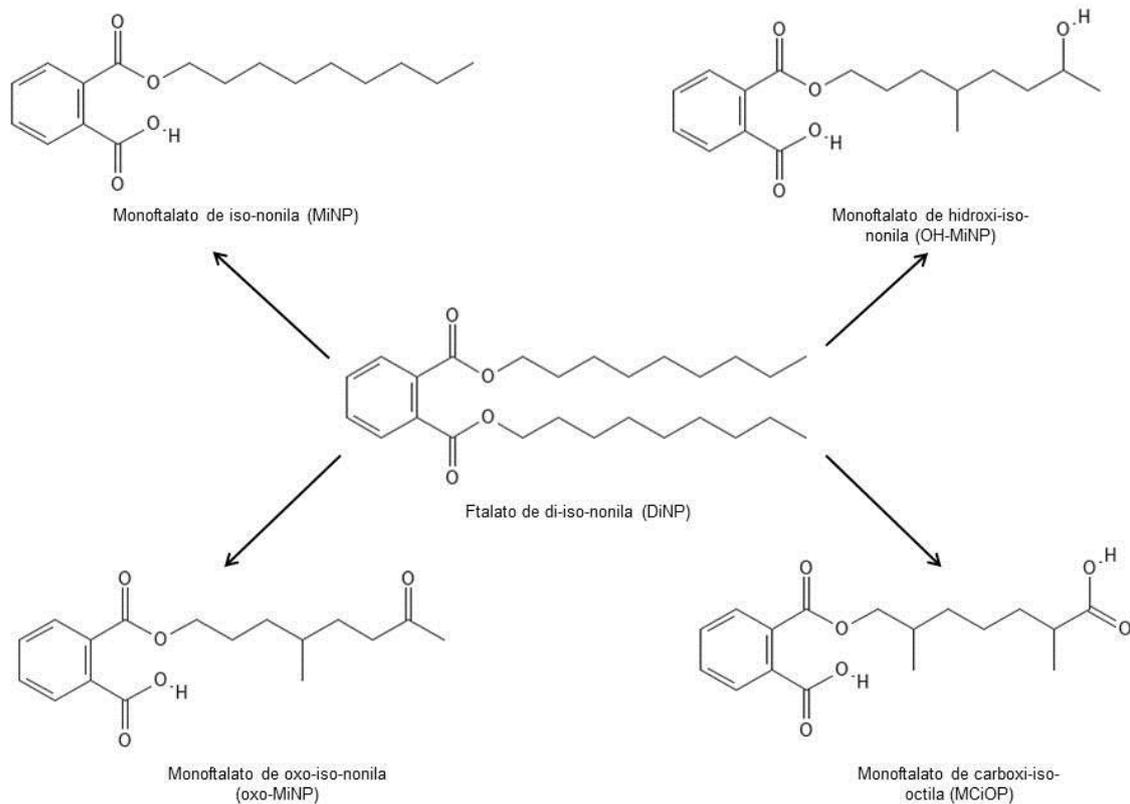
Fonte: a autora.

**Figura 4:** Estrutura molecular do ftalato DEHP e seu metabólito MEHP, 5OH-MEHP, MCMHP, 5oxo-MEHP e MECPP.



Fonte: a autora.

**Figura 5:** Estrutura molecular do ftalato DiNP e seus metabólitos OH-MiNP, MCIOP, oxo-MiNP, MiNP.



Fonte: a autora.

Apesar de serem rapidamente excretados do corpo (BEKÖ *et al.*, 2013; LEE *et al.*, 2014), os efeitos tóxicos ao sistema endócrino causados pelos metabólitos primários dos ftalatos serão sentidos pelo organismo. Alguns estudos mostram relações entre a exposição à ftalatos durante a gravidez e algumas patologias obstétricas, como pré eclâmpsia, aborto espontâneo, restrição de crescimento intrauterina (RCIU), parto pós-termo, risco elevado de cesariana, peso baixo ao nascer e elevado risco de parto pré-termo (ADIBI *et al.*, 2009; CANTONWINE *et al.*, 2016; FERGUSON *et al.*, 2014, 2017; FERGUSON; MCEL RATH; MEEKER, 2014; LENTERS *et al.*, 2016; MARTÍNEZ-RAZO *et al.*, 2021; MEEKER *et al.*, 2009; MESSERLIAN *et al.*, 2016; PENG *et al.*, 2016; PHILIPS *et al.*, 2019; SONG *et al.*, 2018; STRØMMEN *et al.*, 2016; ZHANG *et al.*, 2009). Outros estudos evidenciam a relação entre a exposição à ftalatos e patologias metabólicas, como obesidade,

ressaltando o risco a saúde que isso apresenta uma vez que eles podem se acumular no tecido adiposo, agindo como uma reserva de ftalatos bioativos que podem ser liberados no sistema (REGNIER; SARGIS, 2014), e abnormalidades na funcionalidade do tireoide (MEEKER; CALAFAT; HAUSER, 2007; MEEKER; FERGUSON, 2011; WU *et al.*, 2013). Existem ainda alguns estudos que mostraram a relação entre certos metabolitos de ftalatos (principalmente de DEHP) medidos em urina materna durante gravidez, e alterações em desenvolvimento neurológico (KIM *et al.*, 2011; POLANSKA *et al.*, 2014; TÉLLEZ-ROJO *et al.*, 2013; WHYATT *et al.*, 2012).

Além dos efeitos observados em seres humanos, há evidências de que ftalatos e seus metabolitos afetam também a reprodução em anelídeos (aquáticos e terrestres), moluscos, crustáceos, insetos, peixes e anfíbios, levando a problemas de desenvolvimento e aberrações genéticas (OEHLMANN *et al.*, 2009). Um estudo mais recente mostrou que exposição a DEHP por tempos prolongados desregula o sistema endócrino de peixes marinhos, e em especial os machos são mais sensíveis que as fêmeas (GAO *et al.*, 2018). A toxicidade aquática dos ftalatos varia com o tamanho da cadeia, e estudos mostram que os ftalatos de cadeia curta, como DMP, DEP, DnBP e BBP, apresentam toxicidade aguda e crônica para espécies de algas, invertebrados e peixes de água doce e salgada (GAO *et al.*, 2018). O efeito de ftalatos também pode ser observado em corais, principalmente aqueles com maior teor lipídico e menor densidade de zooxantela, pois corais que sofrem branqueamento tendem a acumular mais ftalatos em seus esqueletos (RANJBAR JAFARABADI *et al.*, 2021).

Considerando os inúmeros problemas relacionados a presença e exposição de ftalatos, diversos países têm legislações que visam limitar a aplicação de ftalatos, e consequentemente a contaminação causada por eles. De acordo com a portaria federal brasileira (“DIÁRIO OFICIAL DA UNIÃO PORTARIA GM/MS No 888, DE 4 DE MAIO DE 2021,”), e a OMS (WORLD HEALTH ORGANIZATION, 2022) o valor máximo permitido (VMP) para o DEHP em água potável é de 8 µg/L, enquanto a União Europeia estabelece a concentração máxima do DEHP em águas de superfície como sendo 1.3 µg/L (EUROPEAN COMMISSION, 2020). Já o US EPA (*United States Environmental Protection Agency*) estabelece como 6 µg/L a concentração máxima permitida de DEHP em água potável (US EPA, 2015).

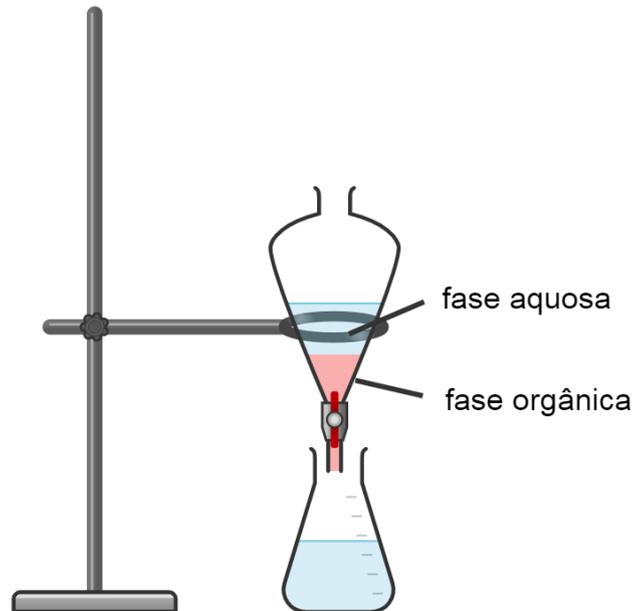
Austrália, Japão e Nova Zelândia estabelecem o limite de DEHP em água potável como 9, 100 e 10 µg/L respectivamente (NET *et al.*, 2015).

### 2.3 TÉCNICAS DE PREPARO DE AMOSTRAS E METODOS DE ANÁLISE

Existem diversos procedimentos de preparo de amostras para análise de ftalatos descritos, em inúmeras matrizes, como alimentos, água potável superficial, sedimento, urina e plasma. Os principais procedimentos envolvem algum tipo de extração, seguido de análise por cromatografia a gás, ou cromatografia à líquido, acoplado a espectrômetro de massas ou algum outro detector. Entre as técnicas de extração para líquidos descritos para ftalatos estão extração líquido-líquido (LLE), extração em fase sólida (SPE), micro-extração em fase sólida (SPME), microextração em fase sólida com *headspace* (HS-SPME). Para extração de ftalatos em sólidos, sedimentos e lama foram descritos a utilização de Soxhlet, extração assistida por micro-ondas (MAE), extração de fluido supercrítico (SFE), extração assistida por ultrassom (USE), extração acelerada por solvente (AES) e dessorção térmica (TD) (NET *et al.*, 2015). A título de informação, a seguir serão descritos os princípios dos procedimentos de preparo de amostras mais utilizados, de acordo com a literatura consultada.

A LLE consiste em adicionar um solvente orgânico a amostra aquosa para realizar a extração. Os ftalatos migrarão para a fase orgânica, por serem mais apolares, sendo então removidos da fase aquosa (Figura 4). O solvente orgânico não deve ser miscível com água, e estudos já mostraram que utilizando hexano e/ou dicloro metano como solventes geram bons (GAO *et al.*, 2014; LIU; CHEN; SHEN, 2013). Apesar da técnica de LLE ser simples, ela é desvantajosa, pois requer grande quantidade de solvente orgânico para ser realizada, que eleva seu custo e gera resíduo.

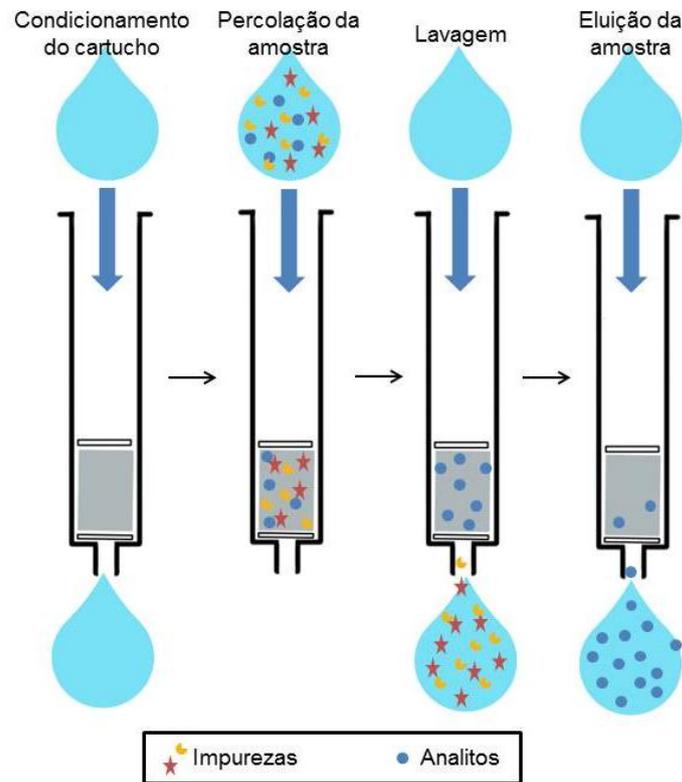
**Figura 6:** Diagrama de sistema de Extração Líquido-Líquido



Fonte: a autora.

A técnica de SPE apresenta facilidade de implementação, além de economizar tempo e solvente quando comparado ao método de LLE, e permitir a pré-concentração de amostras de água, que conseqüentemente diminuem os limites de detecção e quantificação (LODs e LOQs) das amostras (ŻWIR-FERENC; BIZIUK, 2006). O sistema de SPE ainda pode ser acoplado ao GC-MS, tornando-o completamente automático (BROSSA *et al.*, 2003). Após o condicionamento dos cartuchos, os ftalatos na amostra de água passam para a fase sólida ativada, e são recuperados na eluição com solvente orgânico (Figura 5) (LOOS *et al.*, 2008). Estudos mostram que fases sólidas de octadecilsilano (ODS) C18 e HLB são eficientes para extração de ftalatos em água (HE *et al.*, 2013; LIU *et al.*, 2014; ZHENG; ZHANG; TENG, 2014) e metanol, dicloro metano, hexano e acetona quando utilizados como eluentes (individualmente, ou como misturas) apresentam bons resultados. A principal desvantagem do SPE é que o prolongado processo de preparo de amostra pode resultar em maior risco de contaminação.

**Figura 7:** Diagrama de sistema de Extração em Fase Sólida.

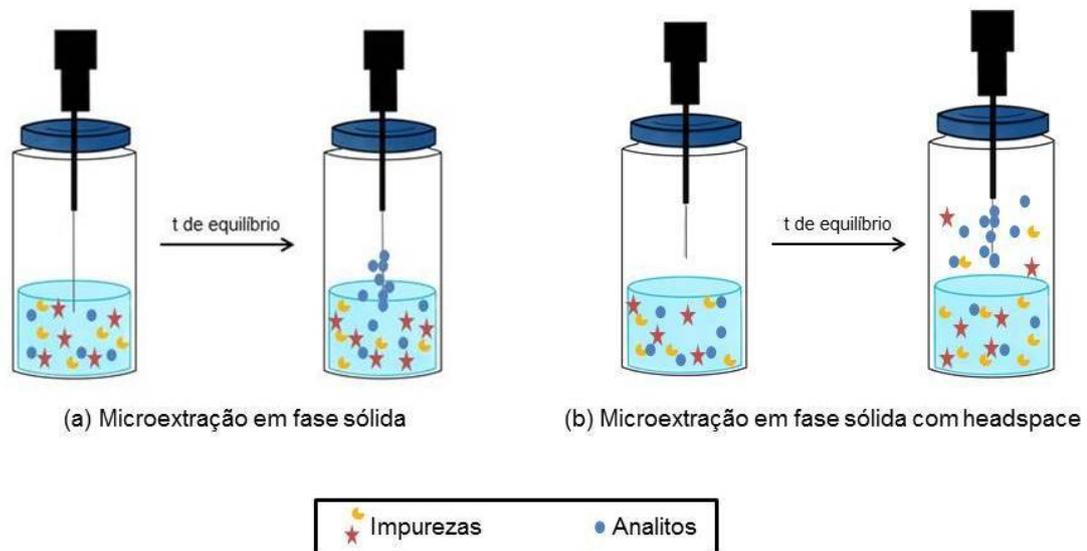


Fonte: a autora.

SPME é uma técnica que envolve a utilização de uma fibra de sílica fundida recoberta por uma fase extratora (polímero ou um adsorvente), que permite extrair os analitos da solução. Essa extração pode ser feita com a fibra submersa em solução, ou fora de solução, chamada de microextração em fase sólida com *headspace* (Figura 6a e Figura 6b). A etapa de extração ocorre quando é atingido o equilíbrio entre os analitos e a fase extratora fibra. Após a extração, a fibra de SPME é transferida para o injetor do cromatógrafo gasoso, onde é feita a dessorção térmica dos analitos, que são analisados (QUEIROZ, 2011). Existem diversos tipos de fases extratoras que podem ser usadas dependendo do tipo de analito, por exemplo, fibras de polidimetilsiloxano e divinil-benzeno (PDMS-DVB), polianilina e poliacrilato já foram utilizados para analisar 6 dos ftalatos prioritários listados pelo US EPA (LI; QU; LIU, 2006; LI, X. *et al.*, 2006; LI, X. H. *et al.*, 2006; PROKŮPKOVÁ *et al.*, 2002). A grande vantagem do processo de SPME/HS-SPME é que não

necessita de solvente orgânico e o preparo de amostra é mínimo, apesar disso, existem poucos estudos que foram capazes de quantificar os ftalatos analisados.

**Figura 8:** (a) Diagrama de sistema de Extração em Fase Sólida. (b) Diagrama de Extração em Fase Sólida com Headspace.



Fonte: a autora

A extração Soxhlet é uma técnica utilizada para extração e quantificação de ftalatos em amostras sólidas, porém, requer quantidades elevadas de solvente orgânico e é demorada, e o risco de contaminação por ftalatos é alta. Outro exemplo é a extração assistida por ultrassom (USE), que também foi reportada como sendo utilizada para quantificar ftalatos, e consiste em ultrassonificar a amostra sólida em solvente até que os ftalatos sejam extraídos (NET *et al.*, 2015). A extração acelerada por solvente (ASE), também conhecida como extração por líquido pressurizado (PLE), permite a extração de ftalatos utilizando matrizes sólidas finamente trituradas e solventes orgânicos a pressões e temperaturas elevadas. Estudos mostraram que quanto menor as partículas sólidas maior o rendimento da extração, devido a maior área de contato, e os resultados mostraram que a técnica apresentava boa reprodutibilidade (HUBERT *et al.*, 2001; MUÑOZ-ORTUÑO *et al.*, 2014; SCHANTZ, 2006). A Dessorção térmica (TD) é uma técnica com alta reprodutibilidade, que não requer preparo de amostra, e é utilizado para análise direta de ftalatos em embalagens de alimentos, brinquedos e equipamentos médicos. Por exemplo, a

ASTM D782 descreve a análise quantitativa de 6 ftalatos presentes em PVC (NET *et al.*, 2015). A amostra é aquecida para dessorver os ftalatos da matriz sólida, e uma vez vaporizado, os ftalatos são analisados.

No que diz respeito a análise instrumental, as técnicas cromatográficas são as mais utilizadas para ftalatos, tanto por cromatografia a gás (GC) ou cromatografia à líquido (LC). (LC) (BÉLANGER; BISSONNETTE; JOCELYN PARÉ, 1997). Diversas técnicas cromatográficas para determinação de ftalatos em bebidas e polímeros foram descritas, utilizando LC com diferentes detectores e acoplados à espectrometria de massas (LC-MS), detector de arranjo de diodo (LC-DAD), e detector UV (LC-UV), e GC acoplado a espectrometria de massas (GC-MS) e com detector de ionização de chama (GC-FID) (SALAZAR-BELTRÁN *et al.*, 2018). Um estudo utilizando água mineral não gaseificada como amostra foi capaz de determinar DBP, BBP e DEHP através de GC-MS, com limites de quantificação (LOQs) entre 0,1 e 1,7 µg/L (KERESZTES *et al.*, 2013). Um método semelhante foi proposto para analisar limonada engarrafada em outro estudo, e DMP, DEP, DBP, BBP, DEHP e DnOP foram detectados por GC-MS usando uma coluna capilar de sílica fundida, com limites de quantificação entre 6 e 21 µg/L (USTUN *et al.*, 2015). Um método desenvolvido utilizando HPLC-UV foi capaz de determinar DMP, DEP, DBP, BBP, DEHP e DnOP em água mineral, utilizando uma coluna C8 e uma solução aquosa de acetonitrila com 1% de metanol, com gradiente de eluição, como fase móvel e os limites de detecção (LODs) alcançados foram entre 0,12 e 0,50 µg/L (ZAATER; TAHBOUB; AL SAYYED, 2014). Em outro método para a análise de ftalatos em vinho tinto, foi utilizando HPLC-DAD, com uma coluna C18 e uma mistura de metanol e água com gradiente de eluição como fase móvel, com LODs de 2,0 a 2,2 µg/L (FAN; LIU; XIE, 2014). Um exemplo de trabalho utilizando LC-Q-TOF-MS foi capaz de detectar DiBP em águas superficiais na Índia, com LODs e LOQs de 9,7 e 29,4 ng/L respectivamente (KHALID *et al.*, 2018).

### 3. OBJETIVOS

O objetivo geral desse trabalho foi realizar um levantamento da presença de ftalatos nas águas do Lago Guaíba pela abordagem *suspect screening*.

#### 3.1 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Montar um banco de dados de ftalatos a serem estudados baseados em dados da literatura.
- Utilizando a metodologia de *suspect screening* realizar uma análise pós-data de amostras do Lago Guaíba, que haviam sido previamente processados via UHPLC-Q-TOF-MS.
- Estudar a distribuição espacial dos ftalatos na região de amostragem.

## 4. MATERIAIS E MÉTODOS

### 4.1 MATERIAIS

As amostras analisadas foram coletadas do Lago Guaíba nos meses de maio, junho, julho e agosto de 2019 e 2020, somando um total de 104 amostras. O preparo das amostras foi realizado utilizando metodologia desenvolvida e validada por Perin, *et al*, 2020 e utiliza extração em fase sólida (SPE) e análise por cromatografia a líquido de ultra alta eficiência acoplada à espectrômetro de massa de tempo de voo (UHPC-Q-TOF-MS) (Anexo A). O tratamento pós-*data* foi realizado em *software* Bruker Compass Data Analysis 4.2<sup>®</sup>.

#### 4.2.1 MÉTODO

#### 4.2.2 Seleção dos ftalatos a serem estudados

Foi realizada uma busca por trabalhos sobre ftalatos utilizando as plataformas *Google Scholar*, *Elsevier* e Periódicos CAPES, como banco de dados. Procurou-se por palavras-chaves como “ftalatos”, “saúde”, “plastificantes”, “análise”, “água”, “toxicidade”, “exposição”, “contaminantes” e “detecção” e o limitou-se o período de publicação dos trabalhos ao ano 2000 até o ano atual, 2022. A partir dessa busca determinou-se quais ftalatos seriam relevantes para o trabalho, baseado em sua toxicidade e efeitos sobre a saúde humana, aplicações e consumo na indústria e exposição humana no dia a dia. Os ftalatos selecionados, assim como suas fórmulas moleculares e suas massas, estão apresentados na Tabela 1.

**Tabela 1:** Base de dados de compostos suspeitos

<b>Ftalato</b>	<b>Fórmula Molecular</b>	<b><i>m/z</i></b>
Ftalato de dimetila (DMP)	C <sub>10</sub> H <sub>10</sub> O <sub>4</sub>	195.0652
Ftalato de dietila (DEP)	C <sub>12</sub> H <sub>14</sub> O <sub>4</sub>	223.0965
Ftalato de di- <i>n</i> -propila (DnPrP)	C <sub>14</sub> H <sub>18</sub> O <sub>4</sub>	251.1278
Ftalato de di- <i>iso</i> -propila (DiPrP)	C <sub>14</sub> H <sub>18</sub> O <sub>4</sub>	251.1278
Ftalato de di- <i>n</i> -butila (DnBP)	C <sub>16</sub> H <sub>22</sub> O <sub>4</sub>	279.1591
Ftalato de di- <i>iso</i> -butila (DiBP)	C <sub>16</sub> H <sub>22</sub> O <sub>4</sub>	279.1591
Ftalato de di(2-metoxietila) (DMEP)	C <sub>14</sub> H <sub>18</sub> O <sub>6</sub>	283.1176

Ftalato de di-n-pentila (DnPP)	$C_{18}H_{26}O_4$	307.1904
Ftalato de di(2-etoxietila) (DEEP)	$C_{16}H_{22}O_6$	311.1489
Ftalato de benzilbutila (BBP)	$C_{19}H_{20}O_4$	313.1434
Ftalato de difenila (DPhP)	$C_{20}H_{14}O_4$	319.0965
Ftalato de diciclohexila (DCHP)	$C_{20}H_{26}O_4$	331.1904
Ftalato de di-n-hexila (DnHP)	$C_{20}H_{30}O_4$	335.2217
Ftalato de di(4-metil-2-pentila) (DMPP)	$C_{20}H_{30}O_4$	335.2217
Ftalato de di(2-n-butoxietila) (DBEP)	$C_{20}H_{30}O_6$	367.2117
Ftalato de di(2-etilhexila) (DEHP)	$C_{24}H_{38}O_4$	391.2843
Ftalato de di-n-octila (DnOP)	$C_{24}H_{38}O_4$	391.2843
Ftalato de di-n-nonila (DnNP)	$C_{26}H_{42}O_4$	419.3156

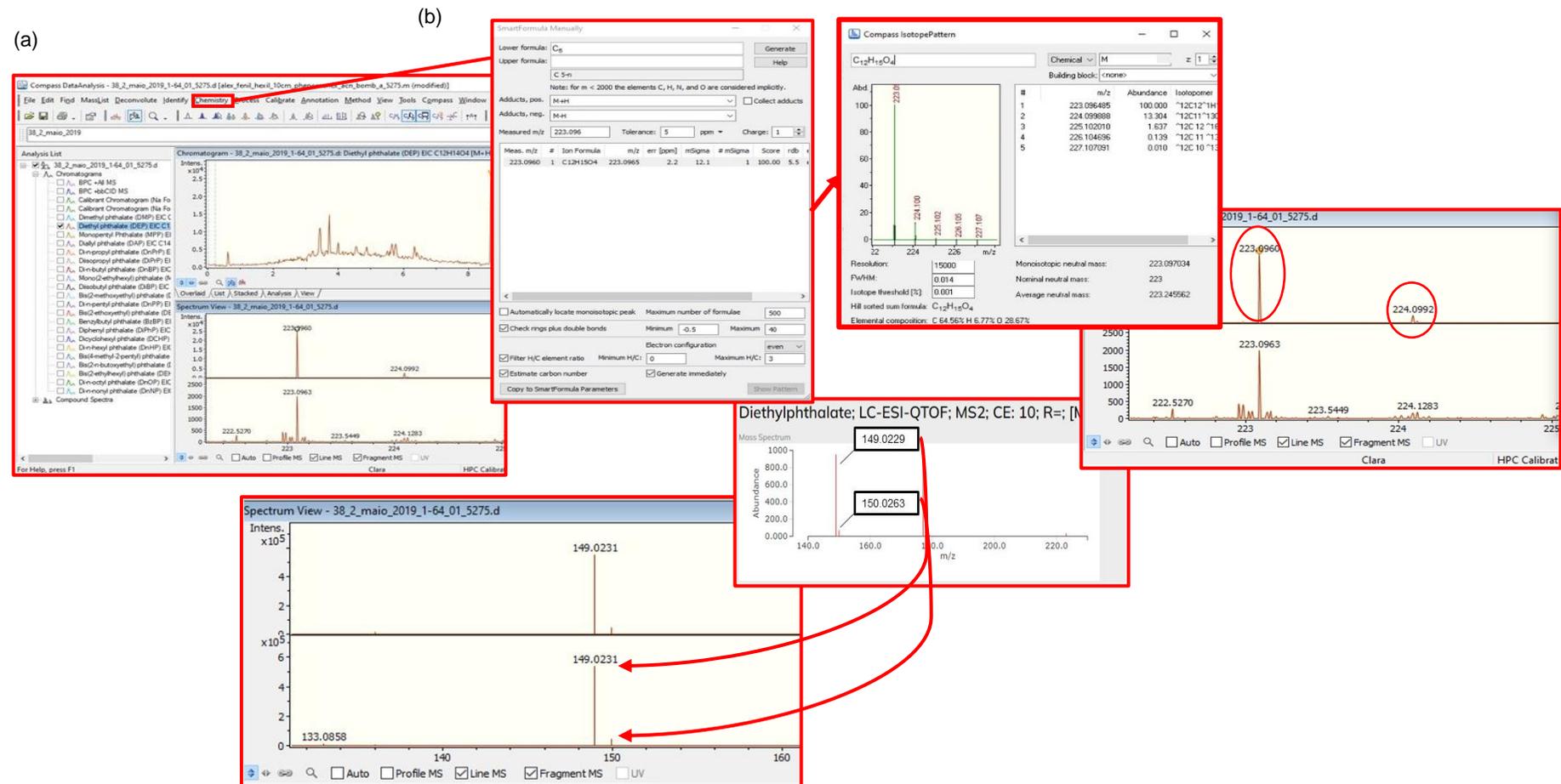
Fonte: a autora

### 4.2.2 Suspect Screening

A sequência de amostras foi importada para o *software* Bruker Compass Data Analysis 4.2<sup>®</sup> e cada amostra foi calibrada individualmente. O calibrante interno utilizado foi o formiato de sódio (NaCOOH). Para cada amostra gerou-se os cromatogramas do íon extraído referentes aos ftalatos de interesse em sua forma protonada.

Os cromatogramas gerados para cada íon foram analisados individualmente. Para cada pico observado no cromatograma analisou-se seu espectro de massas referente, onde buscou-se o sinal do íon do analito protonado (Figura 9a). A fórmula molecular referente ao sinal obtido no espectro de massas foi confirmada pela função *SmartFormula Manually*, tendo como tolerância um erro de 5ppm (Figura 9b). Em seguida foi utilizada a função *Compass IsotopePattern*, que gera a razão isotópica teórica, para confirmar os sinais de razão isotópica para o analito em questão, no tempo de retenção que está sendo avaliado (Figura 9c). A última ferramenta utilizada para verificar a presença do analito no tempo de retenção sendo avaliado é a comparação do padrão de fragmentação (Figura 9d), cujo espectro teórico foi buscado.

**Figura 9:** Usando como exemplo o cromatograma gerado para o DEP; (a) Seleção de um pico no cromatograma e espectro de massas correspondente, com sinal do íon do DEP protonado; (b) Fórmula molecular do DEP confirmado no *SmartFormula Manually* dentro da tolerância de erro; (c) Comparação da razão isotópica observado no espectro com a razão isotópica teórico do *Compass IsotopePattern*; (d) Comparação dos fragmentos teóricos obtidos no MassBank com os fragmentos do DEP na amostra



Fonte: adaptado de Bruker Compass Data Analysis 4.2

## 5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Para esse estudo partiu-se de uma lista de 18 ftalatos de interesse, e ao final da análise de todas as amostras, utilizando a massa exata, razão isotópica, padrão de fragmentação e estrutura molecular teóricos como parâmetros, verificou-se a presença de pelo menos 9 ftalatos. Os ftalatos encontrados, juntos com os fragmentos monitorados para verificação de suas presenças e a faixa média de seus respectivos tempos de retenção são mostrados na Tabela 2.

**Tabela 2:** Lista dos ftalatos encontrados nas amostras

Ftalato	Fórmula Molecular	<i>m/z</i>	Fragmentos Monitorados	<i>t<sub>r</sub></i> (min)
Ftalato de dimetila (DMP)*	C <sub>10</sub> H <sub>10</sub> O <sub>4</sub>	195.0652	163.0395	2.6
Ftalato de dietila (DEP)*	C <sub>12</sub> H <sub>14</sub> O <sub>4</sub>	223.0965	149.0229 150.0263	8.7
Ftalato de di-n-propila (DnPrP)	C <sub>14</sub> H <sub>18</sub> O <sub>4</sub>	251.1278	149.0249 191.0700	7.1 - 7.2
Ftalato de di-iso-propila (DiPrP)				
Ftalato de di-n-butila (DnBP)*	C <sub>16</sub> H <sub>22</sub> O <sub>4</sub>	279.1591	149.0239 205.0855	8.4 - 8.5
Ftalato de di-iso-butila (DiBP)*				
Ftalato de di-n-pentila (DnPP)	C <sub>18</sub> H <sub>26</sub> O <sub>4</sub>	307.1904	149.0233	5.0 - 5.1
Ftalato de benzilbutila (BBP)*	C <sub>19</sub> H <sub>20</sub> O <sub>4</sub>	313.1434	91.0542	3.4 - 3.8
Ftalato de dicitclohexila (DCHP)	C <sub>20</sub> H <sub>26</sub> O <sub>4</sub>	331.1904	249.1118 167.0328	5.8 - 6.2
Ftalato de di-n-hexila (DnHP)	C <sub>20</sub> H <sub>30</sub> O <sub>4</sub>	335.2217	149.0234 163.0391	6.8 - 7.1
Ftalato de di(2-etilhexila) (DEHP)*	C <sub>24</sub> H <sub>38</sub> O <sub>4</sub>	391.2843	149.0232 167.0339	11.4 - 11.6
Ftalato de di-n-octila (DnOP)				

\*ftalatos desreguladores endócrinos

Fonte: a autora

Com base nessa lista de 9 ftalatos montou-se uma tabela para avaliar quais analitos foram detectados nas amostras (Tabela 3) e as suas distribuições podem ser mais bem visualizado no mapa de pontos de amostragem do Lago Guaíba

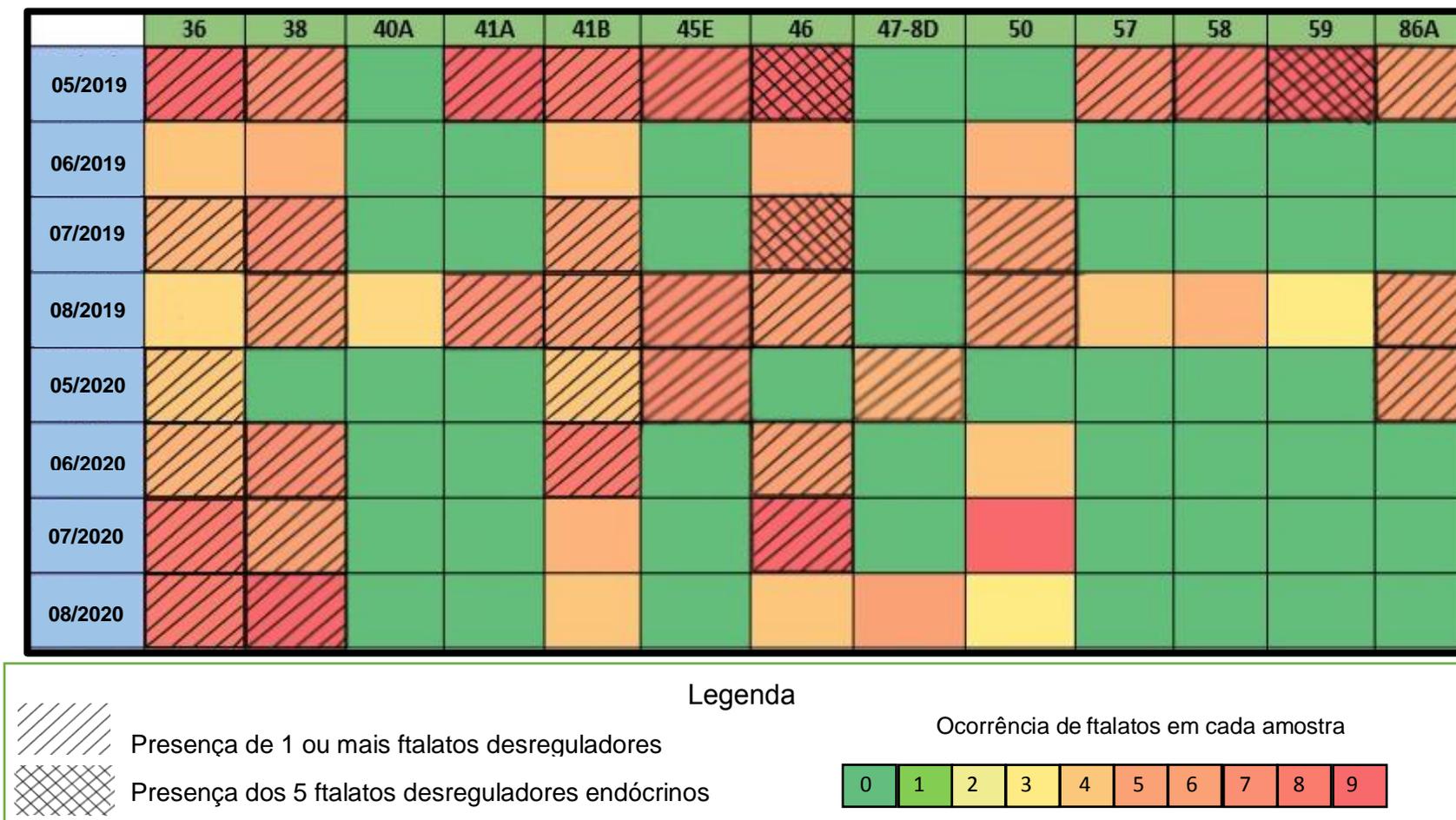
(Figura 11). É importante ressaltar que há ambiguidade quanto a presença de alguns ftalatos como DnBP e DiBP, uma vez que suas massas são iguais, então o cromatograma e o espectro de massas gerado para esses dois analitos são idênticos, assim como as razões isotópicas e os padrões de fragmentação. Sendo assim, sem aplicação de outras técnicas, como RMN de  $^1\text{H}$  e RMN de  $^{13}\text{C}$ , ou Espectrometria de Mobilidade Iônica, fica indeterminado se foi detectado a presença do DnBP, do DiBP, ou de ambos. O mesmo ocorre com os pares DiPrP e DnPrP, e DEHP e DnOP. Assim, DnBP e DiBP passaram a ser representados como DBP, DnPrP e DiPrP passaram a ser representados como DPrP e DEHP e DnOP passaram a ser representados como DEHP/DnOP. Dessa forma pode-se inferir que foram encontrados de 9 a 12 ftalatos nas amostras analisadas.

Tabela 3: Lista de ftalatos encontrados em cada amostra analisada

	36	38	40A	41A	41B	45E	46	47-8D	50	57	58	59	86A
<b>Maio de 2019</b>	DEP, DPiP, DBP, DnPP, BBP, DCHP, DnHP, DEHP, DnOP	DEP, DPiP, DBP, DCHP, DnHP, DEHP, DnOP		DEP, DPiP, DBP, DnPP, BBP, DCHP, DnHP, DEHP, DnOP	DEP, DPiP, DBP, BBP, DCHP, DnHP, DEHP, DnOP	DMP, DEP, DPiP, DBP, DCHP, DnHP, DEHP, DnOP	DMP, DEP, DPiP, DBP, BBP, DCHP, DnHP, DEHP, DnOP			DEP, DPiP, DBP, BBP, DnHP, DEHP, DnOP	DEP, DPiP, DBP, BBP, DCHP, DnHP, DEHP, DnOP	DMP, DEP, DPiP, DBP, BBP, DCHP, DnHP, DEHP, DnOP	DEP, DPiP, DBP, DNHP, DEHP, DnOP
<b>Junho de 2019</b>	DEP, DPiP, DBP, DnHP	DEP, DPiP, DBP, BBP, DnHP			DEP, DPiP, DBP, DnHP		DEP, DPiP, DBP, BBP, DnHP		DEP, DPiP, DBP, BBP, DnHP				
<b>Julho de 2019</b>	DPiP, DBP, DnHP, DEHP, DnOP	DEP, DPiP, DBP, BBP, DnHP, DEHP, DnOP			DMP, DPiP, DBP, DnHP, DEHP, DnOP		DMP, DEP, DPiP, DBP, BBP, DEHP, DnOP		DMP, DPiP, DBP, DnHP, DEHP, DnOP				
<b>Agosto de 2019</b>	DPiP, DBP, DnHP	DMP, DPiP, DBP, DnHP, DEHP, DnOP	DPiP, DBP, DnHP	DMP, DPiP, DBP, DnPP, DnHP, DEHP, DnOP	DPiP, DBP, DnPP, DnHP, DEHP, DnOP	DMP, DPiP, DBP, DnPP, DnHP, DEHP, DnOP	DPiP, DBP, DnPP, DnHP, DEHP, DnOP		DPiP, DBP, DnPP, DnHP, DEHP, DnOP	DPiP, DBP, DCHP, DnHP	DPiP, DBP, DnPP, DCHP, DnHP	DPiP, DnHP	DPiP, DBP, DnPP, DnHP, DEHP, DnOP
<b>Maio de 2020</b>	DPiP, DBP, DEHP, DnOP				DPiP, DBP, DEHP, DnOP	DMP, DPiP, DBP, DCHP, DnHP, DEHP, DnOP		DPiP, DBP, DCHP, DEHP, DnOP					DMP, DPiP, DBP, DCHP, DEHP, DnOP
<b>Junho de 2020</b>	DPiP, DBP, DnHP, DEHP, DnOP	DEP, DPiP, DBP, BBP, DCHP, DEHP, DnOP			DEP, DPiP, DBP, BBP, DCHP, DnHP, DEHP, DnOP		DPiP, DBP, BBP, DnHP, DEHP, DnOP		DPiP, DBP, BBP, DnHP				
<b>Julho de 2020</b>	DPiP, DBP, DnPP, BBP, DCHP, DnHP, DEHP, DnOP	DPiP, DBP, BBP, DnHP, DEHP, DnOP			DPiP, DBP, BBP, DCHP, DnHP		DEP, DPiP, DBP, DnPP, BBP, DCHP, DnHP, DEHP, DnOP		DEP, DPiP, DBP, DnPP, BBP, DCHP, DnHP, DEHP, DnOP				
<b>Agosto de 2020</b>	DPiP, DBP, DnPP, BBP, DCHP, DnHP, DEHP, DnOP	DEP, DPiP, DBP, DnPP, BBP, DCHP, DnHP, DEHP, DnOP			DMP, DnPP, DCHP, DnHP		DPiP, BBP, DCHP, DnHP	DMP, DPiP, DBP, DnPP, DCHP, DnHP	DEP, DPiP				

Fonte: a autora

**Figura 10:** Ocorrência de ftalatos em cada amostra



Fonte: a autora.

Sabendo-se que ftalatos são contaminantes sempre presentes, poderia ser discutido se houve contaminação das amostras pelo método de preparo e análise empregado por Perin, *et al*, 2020, uma vez que esse método foi validado para detecção de pesticidas e agrotóxicos, mas não para ftalatos. Olhando a matriz de densidades (Figura 10), observamos que houveram amostras onde não foram encontrados ftalatos, o que permite inferir que, apesar dos dados utilizados serem provenientes de amostras analisadas por um método não específico para ftalatos, a contaminação pelos ftalados monitorados, foi desconsiderada.

**Figura 11:** Mapa de pontos de amostragem ao longo do Lago Guaíba.



Fonte: (PERIN, 2021)

**Tabela 4:** Pontos de coleta com as suas respectivas coordenadas

<b>Pontos de Coleta</b>	<b>Coordenadas Geográficas</b>
<b>36</b>	30°00'42.2"S 51°12'54.7"W
<b>86A</b>	30°00'31.0"S 51°15'45.6"W
<b>41B</b>	30°02'57.4"S 51°14'09.6"W
<b>45E</b>	30°05'34.1"S 51°15'17.1"W
<b>47-8D</b>	30°14'28.6"S 51°11'13.5"W
<b>57</b>	29°57'12.9"S 51°20'47.9"W
<b>58</b>	29°56'55.5"S 51°18'04.1"W
<b>59</b>	29°56'13.1"S 51°14'10.0"W
<b>38</b>	30°00'16.4"S 51°14'00.6"W
<b>40A</b>	30°01'06.3"S 51°13'21.6"W
<b>41A</b>	30°01'46.0"S 51°15'01.7"W
<b>46</b>	30°06'08.8"S 51°16'16.2"W
<b>50</b>	30°11'32.1"S 51°16'33.0"W
<b>60</b>	30°17'08.1"S 51°11'47.3"W

Fonte: (PERIN, 2021)

A partir da Tabela 3 gerou-se uma matriz de densidades, para avaliar a quantidade de ftalatos encontrados em cada ponto de coleta (Figura 10). Com esses dados podemos observar que no mês de junho, em 2019 e 2020, não foram detectados os analitos DMP e DnPP, e que os meses com as maiores ocorrências dos analitos em 2019 foram maio e agosto, e junho e julho em 2020. Observa-se também que os ftalatos mais frequentemente detectados são o DPrP, que foi identificado em 52 amostras, o DBP que foi identificado em 49 amostras, o DnHP que foi identificado em 46 amostras, e DEHP/DnOP, que foram identificados em 37 amostras, fato que é bastante preocupante uma vez que o DBP e DEHP são considerados desreguladores endócrinos (BILA; DEZOTTI, 2007). Além do DBP e DEHP, são encontrados ainda o BBP em 24 amostras, o DEP em 23 amostras, e o DMP em 13 amostras, que são os outros ftalatos desreguladores endócrinos encontrados durante o processo de *suspect screening*.

Pela matriz de densidade podemos ver também os pontos de coleta mais contaminados são os pontos 36, 38, 41B, 46 e 50. Isso pode ser justificado pelas regiões nas quais esses pontos de coleta se encontram, por exemplo, o ponto 36 se encontra na proximidade de uma cervejaria e de silos de armazenamento, nas quais ftalatos podem estar presentes devido a sua utilização em embalagens de alimentos; o ponto 38 se encontra nos arredores da Ilha das Flores, região que possui uma comunidade de papaleiros informais, que recolhem lixo e resíduos da região metropolitana de Porto Alegre e ao retornar para a Ilha, fazem o descarte do lixo de forma inadequada, contribuindo para a poluição e contaminação da água na região; o ponto 41B se encontra na foz do Arroio Dilúvio, que atualmente é uma das maiores fontes de contaminação do Lago Guaíba; o ponto 50 se localiza nas proximidades de uma fábrica de papel, que utiliza ftalatos no processo de polimerização da celulose.

## 6. CONCLUSÃO

Atualmente o único ftalato monitorado por legislações é o DEHP, mas pelo menos 9 ftalatos diferentes foram identificados nas águas do Lago Guaíba, e baseado na Tabela 1, existem ainda outros ftalatos que não foram identificados nessas amostras, mas que podem se encontrar em outros corpos hídricos, solos, sedimentos e até alimentos e bebidas. Considerando os problemas de saúde associado a exposição elevada de ftalatos e a ausência de legislações mais rigorosas no que diz respeito as concentrações máximas permitidas em águas superficiais e potáveis, esse tipo de trabalho torna-se de suma importância para o monitoramento deles.

Nesse trabalho foi utilizado a abordagem de *suspect screening* para a detecção de ftalatos pós-data, que permitiu a construção de um banco de dados desses compostos presentes na água do Lago Guaíba. Essa base de dados pode ser aplicada em futuros trabalhos, como em um desenvolvimento de um método quantitativo para a detecção desses contaminantes, pois permite orientar quais analitos serão analisados, economizando insumos e tempo de análise. Ela pode ainda ser expandida para contemplar outros corpos hídricos, sendo possível assim, criar bancos de dados dos ftalatos presentes em uma variedade de ambientes aquáticos, como o próprio Arroio Dilúvio ou o mar na região litoral do estado.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ADIBI, J. J. et al. Placental biomarkers of phthalate effects on mRNA transcription: application in epidemiologic research. **Environmental Health**, v. 8, n. 1, 23 abr. 2009.

BACKE, W. J. Suspect and non-target screening of reuse water by large-volume injection liquid chromatography and quadrupole time-of-flight mass spectrometry. **Chemosphere**, v. 266, p. 128961, mar. 2021.

BEKÖ, G. et al. Children's Phthalate Intakes and Resultant Cumulative Exposures Estimated from Urine Compared with Estimates from Dust Ingestion, Inhalation and Dermal Absorption in Their Homes and Daycare Centers. **PLoS ONE**, v. 8, n. 4, p. e62442, 23 abr. 2013.

Bélanger, J. M. R., Bissonnette, M. C., & Jocelyn Paré, J. R. (1997). *Chapter 1 Chromatography: Principles and applications* (pp. 1–35).

BILA, D. M.; DEZOTTI, M. Desreguladores endócrinos no meio ambiente: efeitos e conseqüências. **Química Nova**, v. 30, n. 3, p. 651–666, jun. 2007.

BODZEK, M.; DUDZIAK, M.; LUKS-BETLEJ, K. Application of membrane techniques to water purification. Removal of phthalates. **Desalination**, v. 162, p. 121–128, mar. 2004.

BROSSA, L. et al. Determination of endocrine-disrupting compounds in water samples by on-line solid-phase extraction–programmed-temperature vaporisation–gas chromatography–mass spectrometry. **Journal of Chromatography A**, v. 998, n. 1-2, p. 41–50, maio 2003.

CANTONWINE, D. E. et al. Urinary Concentrations of Bisphenol A and Phthalate Metabolites Measured during Pregnancy and Risk of Preeclampsia. **Environmental Health Perspectives**, v. 124, n. 10, p. 1651–1655, out. 2016.

CASERTA, D. et al. Maternal exposure to endocrine disruptors and placental transmission: a pilot study. **Gynecological Endocrinology**, v. 34, n. 11, p. 1001–1004, 29 maio 2018.

DAVID, F. et al. Analytical Methods Review. **The Handbook of Environmental Chemistry**, p. 9–56, 21 jul. 2002.

DIÁRIO OFICIAL DA UNIÃO PORTARIA GM/MS Nº 888, DE 4 DE MAIO DE 2021. (n.d.). Disponível em: <https://www.in.gov.br/web/dou/-/portaria-gm/ms-n-888-de-4-de-maio-de-2021-318461562>. Acesso em: 30 de mai. 2022.

European Commission, D.-G. for E. (2020). EUR-Lex - 52020SC0251 - EN - EUR-Lex. Disponível em: <https://eur-lex.europa.eu/legal-content/EN/ALL/?uri=SWD:2020:251:FIN>. Acesso em: 02 de jun. 2022.

FAN, Y.; LIU, S.; XIE, Q. Rapid determination of phthalate esters in alcoholic beverages by conventional ionic liquid dispersive liquid–liquid microextraction

coupled with high performance liquid chromatography. **Talanta**, v. 119, p. 291–298, fev. 2014.

FERGUSON, K. K. et al. Mediation of the Relationship between Maternal Phthalate Exposure and Preterm Birth by Oxidative Stress with Repeated Measurements across Pregnancy. **Environmental Health Perspectives**, v. 125, n. 3, p. 488–494, mar. 2017.

FERGUSON, K. K. et al. Urinary Phthalate Metabolite Associations with Biomarkers of Inflammation and Oxidative Stress Across Pregnancy in Puerto Rico. **Environmental Science & Technology**, v. 48, n. 12, p. 7018–7025, 6 jun. 2014.

FERGUSON, K. K.; MCEL RATH, T. F.; MEEKER, J. D. Environmental Phthalate Exposure and Preterm Birth. **JAMA Pediatrics**, v. 168, n. 1, p. 61, 1 jan. 2014.

FREDERIKSEN, H.; SKAKKEBAEK, N. E.; ANDERSSON, A.-M. Metabolism of phthalates in humans. **Molecular Nutrition & Food Research**, v. 51, n. 7, p. 899–911, jul. 2007.

GAO, D. et al. An overview of phthalate acid ester pollution in China over the last decade: Environmental occurrence and human exposure. **Science of The Total Environment**, v. 645, p. 1400–1409, dez. 2018.

GAO, D. et al. Occurrence and fate of phthalate esters in full-scale domestic wastewater treatment plants and their impact on receiving waters along the Songhua River in China. **Chemosphere**, v. 95, p. 24–32, jan. 2014.

GRAHAM, P. R. Phthalate Ester Plasticizers-Why and How They Are Used. **Environmental Health Perspectives**, v. 3, p. 3, jan. 1973. .

HAUSER, R. PHTHALATES AND HUMAN HEALTH. **Occupational and Environmental Medicine**, v. 62, n. 11, p. 806–818, 1 nov. 2005.

HE, W. et al. Spatio-temporal distributions and the ecological and health risks of phthalate esters (PAEs) in the surface water of a large, shallow Chinese lake. **Science of The Total Environment**, v. 461-462, p. 672–680, set. 2013.

HEUDORF, U.; MERSCH-SUNDERMANN, V.; ANGERER, J. Phthalates: Toxicology and exposure. **International Journal of Hygiene and Environmental Health**, v. 210, n. 5, p. 623–634, out. 2007.

HUBERT, A. et al. Accelerated Solvent Extraction - More Efficient Extraction of POPs and PAHs from Real Contaminated Plant and Soil Samples. **Reviews in Analytical Chemistry**, v. 20, n. 2, jan. 2001.

KERESZTES, S. et al. Study on the leaching of phthalates from polyethylene terephthalate bottles into mineral water. **Science of The Total Environment**, v. 458-460, p. 451–458, ago. 2013.

- KHALID, N. K. et al. Screening and quantification of emerging contaminants in Periyar River, Kerala (India) by using high-resolution mass spectrometry (LC-Q-ToF-MS). **Environmental Monitoring and Assessment**, v. 190, n. 6, 31 maio 2018.
- KIM, Y. et al. Prenatal Exposure to Phthalates and Infant Development at 6 Months: Prospective Mothers and Children's Environmental Health (MOCEH) Study. **Environmental Health Perspectives**, v. 119, n. 10, p. 1495–1500, out. 2011.
- LATINI, G.; DE FELICE, C.; VERROTTI, A. Plasticizers, infant nutrition and reproductive health. **Reproductive Toxicology**, v. 19, n. 1, p. 27–33, nov. 2004.
- LEE, J. et al. Childhood exposure to DEHP, DBP and BBP under existing chemical management systems: A comparative study of sources of childhood exposure in Korea and in Denmark. **Environment International**, v. 63, p. 77–91, fev. 2014.
- LENTERS, V. et al. Prenatal Phthalate, Perfluoroalkyl Acid, and Organochlorine Exposures and Term Birth Weight in Three Birth Cohorts: Multi-Pollutant Models Based on Elastic Net Regression. **Environmental Health Perspectives**, v. 124, n. 3, p. 365–372, mar. 2016.
- LI, H.; QU, J.; LIU, H. Removal of a type of endocrine disruptors—di-n-butyl phthalate from water by ozonation. **Journal of Environmental Sciences**, v. 18, n. 5, p. 845–851, set. 2006.
- LI, L. et al. Exposure to diethylhexyl phthalate (DEHP) results in a heritable modification of imprint genes DNA methylation in mouse oocytes. **Molecular Biology Reports**, v. 41, n. 3, p. 1227–1235, 4 jan. 2014.
- LI, X. et al. Determination of phthalates in water samples using polyaniline-based solid-phase microextraction coupled with gas chromatography. **Journal of Chromatography A**, v. 1135, n. 1, p. 101–108, nov. 2006a.
- LI, X. H. et al. Phthalate Ester Pollution in Urban Soil of Beijing, People's Republic of China. **Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology**, v. 77, n. 2, p. 252–259, ago. 2006.
- LIOU, S.-H. et al. Monitoring of PAEMs and beta-agonists in urine for a small group of experimental subjects and PAEs and beta-agonists in drinking water consumed by the same subjects. **Journal of Hazardous Materials**, v. 277, p. 169–179, jul. 2014.
- LIU, Y.; CHEN, Z.; SHEN, J. Occurrence and Removal Characteristics of Phthalate Esters from Typical Water Sources in Northeast China. **Journal of Analytical Methods in Chemistry**, v. 2013, p. 1–8, 2013.
- LOOS, R. et al. Laboratory intercomparison study for the analysis of nonylphenol and octylphenol in river water. **TrAC Trends in Analytical Chemistry**, v. 27, n. 1, p. 89–95, jan. 2008.
- LUKS-BETLEJ, K. et al. Solid-phase microextraction of phthalates from water. **Journal of Chromatography A**, v. 938, n. 1, p. 93–101, 14 dez. 2001.

LYCHE, J. L. et al. Reproductive and Developmental Toxicity of Phthalates. **Journal of Toxicology and Environmental Health, Part B**, v. 12, n. 4, p. 225–249, 28 ago. 2009.

MARTÍNEZ-RAZO, L. D. et al. The impact of Di-(2-ethylhexyl) Phthalate and Mono(2-ethylhexyl) Phthalate in placental development, function, and pathophysiology. **Environment International**, v. 146, p. 106228, jan. 2021.

MEEKER, J. D. et al. Urinary Phthalate Metabolites in Relation to Preterm Birth in Mexico City. **Environmental Health Perspectives**, v. 117, n. 10, p. 1587–1592, out. 2009.

MEEKER, J. D.; CALAFAT, A. M.; HAUSER, R. Di(2-ethylhexyl) Phthalate Metabolites May Alter Thyroid Hormone Levels in Men. **Environmental Health Perspectives**, v. 115, n. 7, p. 1029–1034, jul. 2007.

MEEKER, J. D.; FERGUSON, K. K. Relationship between Urinary Phthalate and Bisphenol A Concentrations and Serum Thyroid Measures in U.S. Adults and Adolescents from the National Health and Nutrition Examination Survey (NHANES) 2007–2008. **Environmental Health Perspectives**, v. 119, n. 10, p. 1396–1402, out. 2011.

MESSERLIAN, C. et al. Urinary Concentrations of Phthalate Metabolites and Pregnancy Loss Among Women Conceiving with Medically Assisted Reproduction. **Epidemiology**, v. 27, n. 6, p. 879–888, nov. 2016.

MUÑOZ-ORTUÑO, M. et al. A cost-effective method for estimating di(2-ethylhexyl)phthalate in coastal sediments. **Journal of Chromatography A**, v. 1324, p. 57–62, jan. 2014.

NET, S. et al. Reliable quantification of phthalates in environmental matrices (air, water, sludge, sediment and soil): A review. **Science of The Total Environment**, v. 515-516, p. 162–180, 15 maio 2015.

OEHLMANN, J. et al. A critical analysis of the biological impacts of plasticizers on wildlife. **Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences**, v. 364, n. 1526, p. 2047–2062, 27 jul. 2009.

OUCHI, Y.; YANAGISAWA, H.; FUJIMAKI, S. Evaluating Phthalate Contaminant Migration Using Thermal Desorption–Gas Chromatography–Mass Spectrometry (TD–GC–MS). **Polymers**, v. 11, n. 4, p. 683, 15 abr. 2019.

PALLOTTI, F. et al. Mechanisms of Testicular Disruption from Exposure to Bisphenol A and Phthalates. **Journal of Clinical Medicine**, v. 9, n. 2, p. 471, 1 fev. 2020.

PENG, F. et al. A study on phthalate metabolites, bisphenol A and nonylphenol in the urine of Chinese women with unexplained recurrent spontaneous abortion. **Environmental Research**, v. 150, p. 622–628, out. 2016.

Perin, M. (2021). Avaliação quantitativa de fármacos, agrotóxicos e metais/metaloídes, e análise qualitativa de compostos suspeitos no Lago Guaíba:

uma abordagem espacial e temporal. 2021. 292 f. Tese de Doutorado (Doutorado em Química) – Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2021.

PHILIPS, E. M. et al. Early pregnancy bisphenol and phthalate metabolite levels, maternal hemodynamics and gestational hypertensive disorders. **Human Reproduction**, v. 34, n. 2, p. 365–373, 20 dez. 2018.

POLANSKA, K. et al. Phthalate exposure and child development: The Polish Mother and Child Cohort Study. **Early Human Development**, v. 90, n. 9, p. 477–485, set. 2014b.

Poole, C. F. (2002). *Chapter 12 Principles and practice of solid-phase extraction* (pp. 341–387).

PROKŮPKOVÁ, G. et al. Development of a solid-phase microextraction method for the determination of phthalic acid esters in water. **Analytica Chimica Acta**, v. 457, n. 2, p. 211–223, abr. 2002.

QUEIROZ, M. E. C. Microextração em sorvente empacotado (MEPS) para a determinação de fármacos em fluidos biológicos. **Scientia Chromatographica**, v. 3, n. 3, p. 223–229, 2011.

RANJBAR JAFARABADI, A. et al. A potential threat to the coral reef environments: Polybrominated diphenyl ethers and phthalate esters in the corals and their ambient environment (Persian Gulf, Iran). **Science of The Total Environment**, v. 775, p. 145822, jun. 2021.

REGNIER, S. M.; SARGIS, R. M. Adipocytes under assault: Environmental disruption of adipose physiology. **Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Molecular Basis of Disease**, v. 1842, n. 3, p. 520–533, mar. 2014.

ROWDHWAL, S. S. S.; CHEN, J. Toxic Effects of Di-2-ethylhexyl Phthalate: An Overview. **BioMed Research International**, v. 2018, p. 1–10, 2018.

SALAZAR-BELTRÁN, D. et al. Phthalates in Beverages and Plastic Bottles: Sample Preparation and Determination. **Food Analytical Methods**, v. 11, n. 1, p. 48–61, 10 jul. 2017.

SCHANTZ, M. M. Pressurized liquid extraction in environmental analysis. **Analytical and Bioanalytical Chemistry**, v. 386, n. 4, p. 1043–1047, 8 ago. 2006.

SCHETTLER, T. Human exposure to phthalates via consumer products. **International Journal of Andrology**, v. 29, n. 1, p. 134–139, fev. 2006.

SERODIO, P.; NOGUEIRA, J. Considerations on ultra-trace analysis of phthalates in drinking water. **Water Research**, v. 40, n. 13, p. 2572–2582, jul. 2006.

SILVA, M. J. et al. Detection of phthalate metabolites in human saliva. **Archives of Toxicology**, v. 79, n. 11, p. 647–652, 2 jul. 2005.

SILVA, M. J. et al. Urinary levels of seven phthalate metabolites in the U.S. population from the National Health and Nutrition Examination Survey (NHANES)

1999-2000. **Environmental Health Perspectives**, v. 112, n. 3, p. 331–338, mar. 2004.

SONG, Q. et al. Evaluating effects of prenatal exposure to phthalates on neonatal birth weight: Structural equation model approaches. **Chemosphere**, v. 205, p. 674–681, ago. 2018.

STRØMMEN, K. et al. Increased levels of phthalates in very low birth weight infants with septicemia and bronchopulmonary dysplasia. **Environment International**, v. 89-90, p. 228–234, abr. 2016.

TÉLLEZ-ROJO, M. M. et al. Prenatal urinary phthalate metabolites levels and neurodevelopment in children at two and three years of age. **Science of The Total Environment**, v. 461-462, p. 386–390, set. 2013.

US EPA, O. W. (2015). National Primary Drinking Water Regulations. Disponível em: <https://www.epa.gov/ground-water-and-drinking-water/national-primary-drinking-water-regulations#Organic>. Acesso em: 02 de jun. 2022.

US EPA, O. W. (2015). National Recommended Water Quality Criteria - Human Health Criteria Table. US EPA. Disponível em: <https://www.epa.gov/wqc/national-recommended-water-quality-criteria-human-health-criteria-table>. Acesso em: 02 jun. de 2022.

USTUN, I. et al. Determination of Phthalates Migrating from Plastic Containers into Beverages. **Food Analytical Methods**, v. 8, n. 1, p. 222–228, 18 maio 2014.

WEAVER, J. A. et al. Hazards of diethyl phthalate (DEP) exposure: A systematic review of animal toxicology studies. **Environment International**, v. 145, p. 105848, 1 dez. 2020.

WHYATT, R. M. et al. Maternal Prenatal Urinary Phthalate Metabolite Concentrations and Child Mental, Psychomotor, and Behavioral Development at 3 Years of Age. **Environmental Health Perspectives**, v. 120, n. 2, p. 290–295, 1 fev. 2012.

World Health Organization. (2022). Guidelines for drinking-water quality: Fourth edition incorporating the first and second addenda. World Health Organization. Disponível em: <https://www.who.int/publications/i/item/9789240045064>. Acesso em: 02 de jun. 2022.

WU, M.-T. et al. Intake of Phthalate-Tainted Foods Alters Thyroid Functions in Taiwanese Children. **PLoS ONE**, v. 8, n. 1, p. e55005, 30 jan. 2013.

ZAATER, M. F.; TAHBOUB, Y. R.; AL SAYYED, A. N. Determination of Phthalates in Jordanian Bottled Water using GC–MS and HPLC–UV: Environmental Study. **Journal of Chromatographic Science**, v. 52, n. 5, p. 447–452, 1 maio 2014.

ZHANG LEI et al. Original Article Dietary Exposure to Benzyl Butyl Phthalate in China. **Biomed Environ Sci**, v. 29, n. 5, p. 365–373, 2016.

ZHANG, Y. et al. Phthalate Levels and Low Birth Weight: A Nested Case-Control Study of Chinese Newborns. **The Journal of Pediatrics**, v. 155, n. 4, p. 500–504, out. 2009.

ZHENG, X.; ZHANG, B.-T.; TENG, Y. Distribution of phthalate acid esters in lakes of Beijing and its relationship with anthropogenic activities. **Science of The Total Environment**, v. 476-477, p. 107–113, abr. 2014.

ZIA, A. I. et al. Technique for rapid detection of phthalates in water and beverages. **Journal of Food Engineering**, v. 116, n. 2, p. 515–523, maio 2013.

## **ANEXO A: CONDIÇÕES DE PREPARO DE AMOSTRAS POR SPE E ANÁLISE POR CROMATOGRAFIA À LÍQUIDO E ESPECTROMETRIA DE MASSAS (LC-QTOF-MS)**

Todas as vidrarias e materiais utilizados para coleta das amostras foram lavados com água em abundância e enxaguados com água deionizada e/ou destilada. Após secagem, foi passado primeiramente hexano e em seguida acetona em toda a vidraria. A vidraria não volumétrica foi levada ao forno, a 300°C por duas horas e resfriada. Todo material foi embalado nas extremidades com papel alumínio, para evitar possíveis contaminações.

A etapa de preparo das amostras (extração e pré-concentração dos analitos) utiliza cartuchos Strata-XTM (33 µm, 200 mg, 6 mL) de fase reserva polimérica disponíveis comercialmente (Phenomenex) para os compostos analisados por LC-QTOF-MS. A extração/pré-concentração foi realizada em um sistema comercial, o qual se utiliza de um dispositivo manifold (Supelco), composto por uma caixa de vácuo com espaço para utilização de doze cartuchos. Na etapa de condicionamento do cartucho StrataXTM, foram adicionados 3 mL de MeOH com HOAc 0,3%, 3 mL de acetona com HOAc 0,3% e 3 mL de água com 5% de MeOH a um fluxo de aproximadamente 5 mL/min. A extração foi conduzida sob vácuo e o volume da amostra percolado foi de 250 mL a um fluxo de aproximadamente 10 mL/min. Após a percolação da amostra os cartuchos foram secos sob vácuo (15 mmHg) durante cerca de 5 min. A eluição procedeu-se com 3 mL de MeOH com HOAc 0,3% seguido de acetona com HOAc 0,3%. O extrato final foi levado a secura sob fluxo de nitrogênio utilizando bloco de aquecimento a 30 °C. O extrato foi reconstituído com água:acetonitrila (95:5) até o volume de 1 mL. As amostras, então, foram filtradas em membrana de PVDF 0,22 µm e injetadas no sistema LC-QTOF-MS.

As condições foram para a análise instrumental foram: separação cromatográfica utilizando coluna analítica Kinetex® Phenyl-Hexyl (100 x 2,1 mm, 1,7 µm) com fase móvel binária a um fluxo de 350 µL/min e volume de injeção de 10 µL. O componente de fase móvel A foi acetonitrila com ácido fórmico 0,1% e o componente B foi solução aquosa com ácido fórmico 0,1%. Para realizar a separação cromatográfica, o seguinte gradiente para B foi utilizado: 95-5% por 12 min, 5% por 2 min, 5-95% por 2 min. O re-equilíbrio foi alcançado com 4 min, totalizando um tempo de análise total de 20 minutos. O sistema LC-QTOF-MS utilizado foi um cromatógrafo a líquido Nexera x2 (Shimadzu) acoplado a um

espectrômetro de massa Impact II (Bruker Daltonics). Os softwares utilizados para a operação do sistema e aquisição de dados foram Compass Hystar 3.2 e o TASQ. Dados de TOF-MS e bbCID (MSMS/MS) foram adquiridos na faixa de  $m/z$  de 50 a 1000 Da. A ionização se deu por Electrospray (ESI) no modo positivo e negativo. A tensão capilar da fonte de íons foi de 4000 V, para o modo positivo, e de 2500V para o modo negativo. A pressão do gás nebulizador foi de 5,0 bar e a taxa de fluxo de gás de secagem de 9,0 L/min. O nitrogênio foi utilizado tanto para o nebulizador quanto para o gás de secagem. A temperatura do gás de secagem foi de 210 °C. O tempo de transferência da fonte foi de 50  $\mu$ s e o tempo de armazenamento pré-pulso de 5  $\mu$ s. A energia de colisão em full scan foi ajustada em 10 eV e a energia de colisão em bbCID foi ajustada em 20-40 eV. No bbCID, os íons precursores foram fragmentados na célula de colisão sem pré-seleção. Ao alternar a aquisição entre as condições de MS e bbCID, os conjuntos de dados de energia de colisão alta e baixa foram coletados simultaneamente. A calibração externa do instrumento foi realizada com uma solução de formiato de sódio 10 mM.